

THESIS

MUNICH

1966

LANE MEDICAL LIBRARY  
STANFORD UNIVERSITY  
300 PASTEUR DRIVE  
PALO ALTO, CALIF.

DAS LACTATDEHYDROGENASE-ERHÖHENDE  
VIRUS AUS MÄUSEGESCHWÜLSTEN  
(RILEY-VIRUS):

IV. DIE WIRKUNG DES VIRUS BEI MÄUSEN MIT PRIMÄREN  
UND TRANSPLANTIERTEN CARCINOMEN

Lieselotte | Thorn



Digitized by the Internet Archive  
in 2026



AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. Büngeler

---

DAS LACTATDEHYDROGENASE-ERHÖHENDE  
VIRUS AUS MÄUSEGESCHWÜLSTEN  
(RILEY-VIRUS):

IV. DIE WIRKUNG DES VIRUS BEI MÄUSEN MIT PRIMÄREN  
UND TRANSPLANTIERTEN CARCINOMEN

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin  
verfaßt und  
einer Hohen Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Lieselotte Thorn  
aus München

München 1966

AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN  
Direktor: Professor Dr. W. BÜNGELER

---

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. A. GEORGII  
Mitberichterstatter: Professor Dr. W. BÜNGELER  
Dekan: Professor Dr. R. ZENKER

Tag der mündlichen Prüfung: 5. 4. 1966

# INHALT

|                                                                                                                                                                | Seite |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| A. EINLEITUNG                                                                                                                                                  | 5     |
| B. MATERIAL UND METHODE                                                                                                                                        | 6     |
| 1. LDH-Virus                                                                                                                                                   | 6     |
| 2. Virushaltige Lösungen                                                                                                                                       | 7     |
| 3. Qualitativer und quantitativer Virusnachweis<br>(Photometrische Fermentbestimmung und Titration)                                                            | 8     |
| a) Qualitative Fermentbestimmung                                                                                                                               | 9     |
| I. Serumgewinnung                                                                                                                                              | 9     |
| II. Photometrische Fermentbestimmung                                                                                                                           | 9     |
| b) Quantitative Fermentbestimmung (Titration)                                                                                                                  | 9     |
| 4. Tumoren                                                                                                                                                     | 10    |
| a) Spontantumoren                                                                                                                                              | 10    |
| b) Polyomatumoren                                                                                                                                              | 10    |
| c) Transplantationstumoren                                                                                                                                     | 10    |
| 5. Versuchsreihen                                                                                                                                              | 10    |
| C. ERGEBNISSE                                                                                                                                                  | 11    |
| 1. Verlauf der Serum-LDH nach Beimpfung mit LDH-<br>Virus bei Mäusen mit spontanen, Induktions- und<br>Transplantationstumoren sowie bei tumorfreien<br>Mäusen | 11    |
| 2. Vergleich der Tumorgewichte mit dem Serum-LDH-<br>Spiegel                                                                                                   | 13    |
| 3. Tumorwachstum bei LDH-Virus-infizierten Mäusen<br>mit spontanen und Transplantationstumoren und<br>bei unbeimpften Kontrollmäusen mit Tumoren               | 16    |
| 4. Virusgehalt von Tumor- und Organewebe                                                                                                                       | 20    |
| D. DISKUSSION                                                                                                                                                  | 32    |
| E. ZUSAMMENFASSUNG                                                                                                                                             | 35    |

## F. LITERATURNACHWEIS

37

Legenden der Abb. 1 bis 3

41

Lebenslauf

46

Die Untersuchungen wurden mit Sachbeihilfe und Geräten der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt (Forschungsvorhaben Ge 121/6).

## A. EINLEITUNG

In Impfgeschwülsten und virusinduzierten Leukämien der Maus wurde zuerst von RILEY (32), später auch von anderen Untersuchern (ADAMS et al., 1; BAYERLE et al., 2; CRISPENS, 5; GEORGII, 6, 7; GEORGII et al., 8 - 10; MUNDY und WILLIAMS, 16; NOTKINS et al., 17, 18; RAUEN und HUPE, 25) ein übertragbares Agens entdeckt, das im Blutserum der infizierten Mäuse eine nach zwei Tagen einsetzende und lebenslang anhaltende Erhöhung des glykolytischen Fermentes Lactatdehydrogenase (LDH) auf etwa 5-fache Normwerte bewirkt. Dieses LDH-Agens wurde bisher in über 50 Impftumoren und übertragbaren Leukämien der Maus nachgewiesen (PLAGEMANN und SWIM, 22; RILEY, 29; RILEY et al., 30). Auch der Serumspiegel anderer Fermente, wie Glutamatoxalacetattransaminase, Phosphohexoseisomerase, Malatdehydrogenase und Isocitratdehydrogenase, wird durch das LDH-Agens erhöht (BAYERLE et al., 2; MAHY et al., 15; NOTKINS et al., 18, 19; PLAGEMANN et al., 23).

Das LDH-erhöhende Agens ist im Blutserum sowie im Organ- und Tumorgewebe der infizierten Mäuse nachweisbar und durch zellfreie Filtrate des Blutserums oder der genannten Gewebe auf gesunde und tumortragende Mäuse überimpfbar (GEORGII et al., 8, 10; NOTKINS et al., 17). Bei den Empfängertieren ruft es den beschriebenen anhaltenden Anstieg des Serum-LDH-Spiegels hervor (GEORGII, 7; ROWSON et al., 36), der zum qualitativen Nachweis des LDH-Agens benutzt wird. Diese zellfreien Passagen sind beliebig oft wiederholbar (GEORGII et al., 8; MUNDY und WILLIAMS, 16; RAUEN und HUPE, 25; RILEY et al., 32; ZOBL, 38). Die zellfreie Übertragbarkeit und die durch die fortlaufenden Tierpassagen nachgewiesene Vermehrung des LDH-Agens in der Maus sind Beweise für seine Virusnatur. RILEY sprach zunächst von "virusartigem Agens" (RILEY et al., 31). NOTKINS et al. (19) und GEORGII et al. (8) nannten es LDH-Agens. Seit dem elektronenmikroskopischen Nachweis der korpuskulären Natur des LDH-erhöhenden Agens durch BLADEN und NOTKINS (3) nennt man es LDH-Virus oder nach seinem Entdecker Riley-Virus (MAHY et al., 15; ROWSON et al., 36, 37).

Offenbar gibt es verschiedene Untergruppen bzw. Stämme des LDH-Virus, die sich durch ihre Herkunft aus verschiedenen Geschwülsten oder Leukämien sowie durch die Höhe des induzierten Anstieges des Serum-LDH-Spiegels und durch den Infektionstiter unterscheiden (GEORGII, 7; GEORGII et al., 8; GREGORY et al., 12; LENZ, 13; RILEY, 29; RILEY et al., 34).

RILEY fand bei Tumormäusen, die primär LDH-Virus-frei waren, nach Infektion mit dem Virus einen sehr viel höheren Anstieg des Serum-LDH-Spiegels als bei tumorfreien Empfänger-mäusen (RILEY, 28, 29; RILEY et al., 31, 35).

Diese Beobachtung wurde von anderen Untersuchern bestätigt (ADAMS et al., 1; GEORGII, 7; NOTKINS und GREENFIELD, 18; PLAGEMANN und SWIM, 22; ROWSON et al., 36; ZOBL, 38).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung des LDH-Virus bei Tieren mit verschiedenartigen primär LDH-Virus-freien Tumoren vergleichend untersucht. Wir verwendeten primäre Carcinome, die spontan entstanden oder durch Polyoma-Virus induziert waren, und den Impftumor Adenocarcinom 284, der durch fortlaufende Stückchentransplantation eines spontan entstandenen Adenocarcinoms der Maus gewonnen wurde.

Es wurden folgende Fragen untersucht:

1. die Wirkung des Virus auf den Serum-LDH-Spiegel von Mäusen mit den beschriebenen Tumoren sowie von gesunden Kontrolltieren,
2. die Beziehungen zwischen der Größe der Tumoren und der Höhe des Serumfermentspiegels,
3. die Wirkung des Virus auf das Tumorwachstum,
4. der Virusgehalt des Tumorgewebes und des Organgewebes der tumortragenden Tiere im Vergleich mit dem des Organgewebes der Kontrolltiere.

## B. MATERIAL UND METHODE

1. LDH-Virus: Für die vorliegenden Versuche wurde LDH-Virus aus Landschütz-Sarkom Sa I verwendet, für 2 Versuche LDH-Virus aus Ehrlich-Mäuse-Ascites-Tumor des Sloan-Kettering Institute, New York, U. S. A.

Das Landschütz-Sarkom Sa I war 1952 spontan als retroperitoneales Retothelsarkom der Maus entstanden (LÖBLICH und LANDSCHÜTZ, 14). Es wurde 1956 von GRAFFI übernommen und wird seither am Pathologischen Institut der Universität München in Ascitesform gehalten, zuerst auf AB-Mäusen, seit etwa 3 Jahren auf NMRI-Mäusen. Der Ascitestumor wird in 8-tägigem Rhythmus durch intraperitoneale Injektion übertragen. Für unsere Versuche wurden zellfreie Filtrate des Tumorascites oder des Organextraktes aus Leber, Milz und Nieren mit dem LDH-Virus infizierter Mäuse verwendet.

Das Ausgangsmaterial für die Versuche mit LDH-Virus aus Ehrlich-Mäuse-Ascites-Tumor des Sloan-Kettering Institute war uns von RILEY in tiefgefrorenem Zustand in Ascitesform überlassen worden. Der aufgetaute Tumorascites wurde Mäusen in Mengen von je 0,5 ml intraperitoneal injiziert und das Virus von diesen Tieren durch eine Serum- und mehrere Organpassagen weiter über-

tragen. Für unsere Versuche wurden zellfreie Organauszüge aus Leber, Milz und Nieren virusinfizierter Tiere benutzt.

2. Virushaltige Lösungen: Die Tiere wurden 3 - 8 Tage nach Beimpfung mit dem LDH-Virus getötet. Leber, Milz und Nieren wurden entnommen und entweder sofort aufgearbeitet oder zunächst bei -28 Grad C eingefroren und vor der weiteren Aufarbeitung durch Stehenlassen bei Zimmertemperatur aufgetaut. Die Organe wurden dann gewogen, mit der Schere zerkleinert, mit der 4- oder 9-fachen Menge weißer Hankslösung versetzt und im Bühler-Homogenisator oder Dispergiergerät Ultra-Turrax homogenisiert. Das Organhomogenat wurde 3 mal je 20 Minuten bei +4 Grad C in der Christ- oder in der Stockzentrifuge bei 4500 U/min zentrifugiert. Der Bodensatz wurde nach jedem Zentrifugieren verworfen. Nach dem 3. Zentrifugieren wurde der Überstand durch ein Seitzfilter bei Entkeimungsschicht EKS II unter Stickstoffdruck gepreßt. Vor Aufgießen der virushaltigen Lösung wurde die Filterschicht mit etwa 4 ml sterilem Verdünnungsmittel, weißer Hankslösung oder physiologischer Kochsalzlösung, angefeuchtet. Das zellfreie Filtrat wurde sofort oder nach einmaligem Einfrieren - wie bei den einzelnen Versuchen angegeben - in Mengen von je 0,2 - 0,5 ml Mäusen intraperitoneal injiziert.

Bei den Titerversuchen wurden die Tumoren bzw. Organe in der beschriebenen Weise aufgearbeitet, sie wurden dabei immer in der 9-fachen Menge weißer Hankslösung suspendiert. Aus dem durch ein Seitzfilter der Porengröße EKS II gepreßten zellfreien Tumor- bzw. Organauszug wurden mit weißer Hankslösung logarithmische Verdünnungsreihen hergestellt, die sofort oder nach einmaligem Einfrieren - wie bei den Versuchen angegeben - in Mengen von je 0,5 ml Mäusen intraperitoneal gespritzt wurden. Bei einem Versuch mit Transplantationstumoren (siehe Tabelle 7 a) wurden nicht die Tumoren und Organe, sondern die im Verhältnis 1 : 9 mit weißer Hankslösung verdünnten zellfreien Tumor- und Organauszüge eingefroren. Nach Untersuchungen von PRECHTEL (24) ist der Infektiositätsverlust nach einmaligem Einfrieren bei verschiedenen Aufbewahrungsmethoden des virushaltigen Materials etwa gleich, nämlich 3 - 5 Zehnerpotenzen. Unterschiede ergeben sich erst nach mehrmaligem Einfrieren.

Bei einem Teil der Titerversuche (siehe Ergebnisse: 4. Virusgehalt von Tumor- und Organgewebe) wurden die Tumor- bzw. Organauszüge nach einer etwas anderen Methode hergestellt. Nach der Entnahme bzw. - falls sie eingefroren waren - nach dem Auftauen durch Stehenlassen bei Zimmertemperatur und anschließendem Wiegen wurden die Tumoren bzw. Organe zunächst mit Hankslösung + Penicillin 3 mal abgespült (auf 100 ml Hankslösung 200 000 Einheiten Penicillin, gelöst in 5 ml Hankslösung) und dann mit der Schere zerkleinert. Danach wurde die 9-fache Menge weißer Hankslösung hinzugefügt und die

Tumor- bzw. Organsuspension 5 Minuten im Bühler-Homogenisator homogenisiert. Die Homogenate wurden für 40 Minuten in den Eisschrank gestellt (bei +4 Grad C), um das Virus aus den Zellen zu eluieren. Die Homogenate wurden dann je einmal 5 Minuten und 10 Minuten bei + 4 Grad C in der Christ- oder in der Stockzentrifuge bei etwa 3 - 5000 x g abgeschleudert und danach bei 30 000 x g (= 4400 U/min) in der Christzentrifuge im Hochgeschwindigkeitsaufsatz 15 Minuten bei +4 Grad C zentrifugiert. Nach dem dritten Zentrifugieren wurde der Überstand durch ein Seitzfilter bei Entkeimungsschicht EKS II geschickt, nachdem die Filterschicht vorher mit 4 ml steriler weißer Hankslösung angefeuchtet worden war. Aus dem Filtrat wurden mit weißer Hankslösung logarithmische Verdünnungsreihen hergestellt.

In einzelnen Versuchen wurde auch der Infektionstiter des Blutserums bestimmt. Zur Gewinnung des Serums wurde mit Glaskapillaren aus dem retrobulbären Venenplexus Blut entnommen. Die Kapillaren wurden 20 Minuten in der Stockzentrifuge bei 2000 U/min zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde mit der 9-fachen Menge weißer Hankslösung verdünnt und durch ein Schottisches Glasfilter G<sub>5</sub> geschickt. Das Filtrat wurde mit weißer Hankslösung logarithmisch weiter verdünnt.

Die Sterilität der Impfösungen wurde durch Ausimpfen in Merck-Bouillon-Kulturen geprüft.

3. Qualitativer und quantitativer Virusnachweis (Photometrische Fermentbestimmung und Titration): Das Virus wurde qualitativ durch den Anstieg des Serum-LDH-Spiegels der beimpften Mäuse nachgewiesen. Die LDH-Aktivität des Serums gesunder unbeimpfter Mäuse beträgt bei n = 2000 durchschnittlich 31 Bücher-Einheiten (Bü E). Am 2. Tag nach der Infektion mit dem Riley-Virus steigt der Fermentspiegel des Serums an, erreicht am 7. Tag post infectionem 8- bis 10-fache Normwerte, fällt in den nächsten 8 Tagen auf etwa 5-fache Normwerte ab und hält sich bis zum Tod der Tiere in dieser Höhe (GEORGII, 6, 7). In unseren Versuchen wurde die LDH-Aktivität des Serums erstmals am 2. - 6. Tag post infectionem und dann laufend in 2- bis 3-tägigem Abstand bis zum Ende des Versuches bestimmt. Ein Anstieg des Serum-LDH-Spiegels auf Werte von über 100 Bü E oder auf 5-fache Ausgangswerte wurde als positiv gewertet.

Die Höhe des Serum-LDH-Spiegels sagt nichts über den quantitativen Virusgehalt aus (NOTKINS und SHOCHAT, 21), sie dient nur zum qualitativen Virusnachweis. Die quantitative Bestimmung der Infektiosität des Virus erfolgt durch Titration.

#### a) Qualitative Fermentbestimmung:

I. Serumgewinnung: Das Blut wurde durch Punktion des retrobulbären Venenplexus mit Glaskapillaren nach der von RILEY (27) beschriebenen Methode gewonnen. Es wurden jeweils etwa 0,4 ml Blut pro Tier entnommen. Die Kapillaren wurden 20 Minuten in der Stockzentrifuge bei 2000 U/min zentrifugiert und das überstehende Serum zur photometrischen Bestimmung der LDH-Aktivität verwendet. Bis zur Fermentbestimmung wurden die Kapillaren im Eisschrank bei +4 Grad C aufbewahrt.

II. Photometrische Fermentbestimmung: Die Lactatdehydrogenase wurde durch den DPN-H-Test im Eppendorf-UV-Spektrophotometer bei 366  $\mu$ m gemessen. Als Reagentien wurden die Puffer-Pyruvat-Substrate und das DPN-H der Fa. Boehringer und Söhne, Mannheim, verwendet. Die Reaktion wurde für eine Minute abgelesen und die LDH-Aktivität in Einheiten nach Bücher pro ml Serum berechnet.

#### b) Quantitative Fermentbestimmung (Titration):

Die virusbeimpften Tumormäuse und die virusbeimpften tumorfreen Kontrolltiere wurden in den einzelnen Versuchsreihen in verschiedenen Zeitabständen nach der Beimpfung (nach 4 - 34 Tagen) getötet und gewogen. Dann wurden Leber, Milz, Nieren und die Tumoren unter sterilen Bedingungen entnommen. Die Organe der Tumormäuse, die Organe der Kontrolltiere und jeder einzelne Tumor wurden gesondert gewogen und dann entweder sofort in der beschriebenen Weise zu zellfreien Extrakten aufgearbeitet oder zunächst in Petrischalen oder Plastiktüten bei -28 Grad C getrennt eingefroren. Die logarithmischen Verdünnungen der zellfreien Tumor- und Organauszüge wurden Gruppen von je 2 oder 3 gesunden Mäusen in Mengen von je 0,5 ml pro Tier intraperitoneal injiziert. Die Serum-LDH dieser Tiere wurde in der Regel am 4. Tag post infectionem bestimmt. Werte von über 100 Bü E oder ein Anstieg auf 5-fache Ausgangswerte wurden als positiv gewertet. In Zweifelsfällen wurde die Serum-LDH im Abstand von einigen Tagen nochmals bestimmt. Von einzelnen Tieren, deren Serum-LDH-Spiegel an der Grenze zwischen positiven und negativen Werten lag, wurde das Blutserum auf 3 - 4 gesunde Mäuse übertragen. Bei einem Anstieg des Serumfermentspiegels dieser Tiere auf Werte von über 100 Bü E oder auf 5-fache Ausgangswerte am 4. Tag post infectionem wurde die Serum-LDH des Spendertieres als positiv gewertet. Die ID<sub>50</sub> wurde nach der Methode von REED und MUENCH (26) berechnet.

#### 4. Tumoren:

a) Spontanumoren: Es handelte sich fast ausschließlich um Mammacarcinome (histologisch cystisch-papilläre Adenocarcinome) bei älteren weiblichen Tieren. Die Tiere waren größtenteils aus dem Stamm NMRI aus dem Zentralinstitut für Versuchstierzucht Hannover. In einigen Versuchsreihen wurden Tiere des Inzuchtstammes C3H/J/He/Han. verwendet. Einige Tiere hatten mehrere Tumoren. Der durchschnittliche Serum-LDH-Wert der unbeimpften Tiere mit Spontanumoren betrug 58 Bü E gegenüber 31 Bü E bei gesunden unbeimpften Mäusen.

b) Polyomatumoren: Tiere des Stammes NMRI wurden am ersten oder zweiten Lebenstag mit  $10^3$  TCID von SE-Polyoma-Virus beimpft (GEORGII und WRBA, 11). Für unsere Versuche wurden 5 - 8 Monate alte Tiere verwendet, bei denen zwischen dem 90. und 150. Tag nach der Beimpfung Mammacarcinome (histologisch cystisch-papilläre Adenocarcinome) aufgetreten waren. Etwa die Hälfte der Tiere hatte mehr als einen Tumor. Der durchschnittliche Serum-LDH-Wert der nicht mit dem Riley-Virus beimpften Tiere mit Polyomatumoren betrug 89 Bü E.

c) Transplantationstumoren: Der von uns verwendete Impftumor wurde durch fortlaufende Transplantation eines Mammacarcinoms gewonnen. Das Carcinom war bei einer Maus des Inzuchtstammes C3H/J/He/Han. spontan aufgetreten und wurde in 14-tägigem Rhythmus durch Stückchentransplantation subcutan auf Mäuse des gleichen Stammes übertragen. Die Angehrate betrug in der ersten Transplantationspassage 90 %, in den weiteren Passagen fast 100 %. Histologisch handelte es sich um ein cystisch-papilläres Adenocarcinom, aus dem sich in den Transplantationspassagen ein vorwiegend solid gebautes Drüsenzellcarcinom entwickelte. Nach dem histologischen Bau und der ersten Versuchsnummer wurde der Tumor Adenocarcinom 284 genannt. Für die vorliegenden Versuche wurden Tiere der 5. bis 13. Passage verwendet. Eine Infektion der unbeimpften Mäuse mit Riley-Virus wurde durch Bestimmung der Serum-LDH vor und nach der Tumortransplantation ausgeschlossen. Der durchschnittliche Serum-LDH-Wert der Tiere mit dem Transplantationstumor Adenocarcinom 284 betrug 39 Bü E.

5. Versuchsreihen: Jede Versuchsreihe bestand aus meist etwa 8 - 10 Tieren mit einem der 3 beschriebenen Tumoren und aus etwa 10 tumorfreien Tieren. Die tumorfreien Tiere waren weiße Mäuse des nicht ingezüchteten Stammes NMRI aus dem Zentralinstitut für Versuchstierzucht Hannover, aus der Zuchtanstalt WIGA (Swiss-Mäuse; NMRI/Gassner) und aus der Versuchstierzuchtanstalt Tuttlingen. Je etwa die Hälfte der Tumortiere und der tumorfreien Tie-

re einer Versuchsreihe wurde mit Riley-Virus beimpft, die übrigen Tiere wurden als unbeimpfte Kontrollen belassen. Während des Versuches wurden die beimpften Tumortiere, die unbeimpften Tumortiere, die beimpften tumorfreien Tiere und die unbeimpften tumorfreien Tiere getrennt in Kunststoffkäfigen gehalten. Die Tiere waren einzeln markiert. Sie wurden vor Versuchsbeginn und während des Versuches laufend in Abständen von meist 3 Tagen auf einer "Mettler"-Waage Typ K7T gewogen. Nach dem Tod wurden die Tiere und die einzelnen herauspräparierten Tumoren gewogen. Vor Versuchsbeginn wurden die Tiere in einem eigenen Stallraum in Gitter- oder Kunststoffkäfigen gehalten. Die tumorfreien Tiere wurden mindestens 14 Tage vor Versuchsbeginn gegen Elektromelievirus vacciniert, die mit SE-Polyoma-Virus beimpften Tiere im Alter von 4 Wochen. Die Tiere mit Spontan- und Transplantationstumoren wurden nicht vacciniert. Ernährt wurden die Tiere mit Preßfutter und Wasser aus Saugflaschen. Vor Versuchsbeginn wurden die Käfige und Saugflaschen autoklaviert.

## C. ERGEBNISSE

### 1. Verlauf der Serum-LDH nach Beimpfung mit LDH-Virus bei Mäusen mit spontanen, Induktions- und Transplantationstumoren sowie bei tumorfreien Mäusen:

Die durchschnittlichen Mittelwerte der Serum-LDH Riley-Virus-freier Tiere betragen bei gesunden Mäusen bei  $n = 2000$  31 Bü E, bei Mäusen mit Spontanumoren 58 Bü E, bei Mäusen mit Polyomatumoren 89 Bü E und bei Mäusen mit dem Transplantationstumor Adenocarcinom 284 39 Bü E.

Bei tumorfreien Mäusen stieg die Serum-LDH nach Beimpfung mit dem LDH-Virus bis zum 4. Tag post infectionem auf etwa 5-fache Normwerte an, der LDH-Anstieg betrug etwa 120 Bü E gegenüber dem Ausgangswert. Die Serum-LDH blieb bis zum Ende des Versuches, etwa 30 Tage nach der Beimpfung, auf etwa gleicher Höhe.

Mäuse mit primären, spontanen oder Polyoma-Virus-induzierten, Carcinomen zeigten nach LDH-Virus-Beimpfung ein unterschiedliches Verhalten der Serum-LDH. Während bei zahlreichen Tieren die Serum-LDH-Werte gegenüber den tumorfreien virusbeimpften Tieren nicht wesentlich erhöht waren, zeigten einige Tiere mit Polyomatumoren eine Serum-LDH-Erhöhung auf 4- bis 7-fache Ausgangswerte und einige Tiere mit Spontanumoren sogar auf 4- bis 10-fache Ausgangswerte. Da diese Tiere meist nach dem maximalen LDH-Anstieg spontan verendeten, fielen die Mittelwerte der einzelnen Versuchsreihen wieder auf Werte, die der LDH-Erhöhung der tumorfreien virusbeimpften

Kontrollen entsprachen (Abb. 1 a und 2). Bei einigen dieser Tiere blieb die Serum-LDH bis zum Ende des Versuches, in der Regel 14 - 30 Tage, erhöht, bei einzelnen Tieren sank sie auf Werte um 150 - 200 Bü E ab.

Bei den Tieren mit dem Transplantationstumor Adenocarcinom 284 dagegen zeigte sich in allen Versuchsreihen und bei allen Tieren ein Anstieg der Serum-LDH auf etwa 10-fache Ausgangswerte. Die Serum-LDH stieg meist zwischen dem 3. und 12. Tag nach der Beimpfung auf 4- bis 8-fache Ausgangswerte an (Abb. 1b), zwischen dem 12. und 21. Tag erfolgte ein weiterer Anstieg auf etwa 10-fache Ausgangswerte. Bei einzelnen Tieren stieg der Serum-LDH-Spiegel schon zwischen dem 3. und 12. Tag auf etwa 10-fache Ausgangswerte an und blieb bis zum Ende des Versuches, bis zum 24. oder 31. Tag, auf etwa gleicher Höhe. Ein vorübergehender Fermentanstieg auf über 10-fache bis 20-fache Ausgangswerte wurde nur bei wenigen Tieren beobachtet, die LDH-Werte fielen dann in der Regel wieder auf etwa 10-fache Ausgangswerte ab. Nur bei einem Tier stieg die Serum-LDH am 17. Tag post infectionem fast auf das 100-fache des Ausgangswertes an, von 26 auf 2590 Bü E, und sank dann auf 660 Bü E ab. Bis zum Ende des Versuches am 31. Tag schwankten die Serum-LDH-Werte dieses Tieres zwischen 540 und 890 Bü E. Bei allen übrigen Tieren wurden Werte von 800 Bü E nicht überschritten.

Abb. 2 zeigt eine Gegenüberstellung der Mittelwertskurven der Serum-LDH der Mäuse mit spontanen, Polyoma-Virus-induzierten und Transplantationstumoren sowie der tumorfreien virusbeimpften Kontrolltiere aus allen Versuchsreihen mit LDH-Virus aus Landschütz-Sarkom. Der durchschnittliche Serum-LDH-Wert der Mäuse mit spontanen oder Polyoma-Virus-induzierten Tumoren betrug zwischen dem 4. und 28. Tag nach der Beimpfung etwa 220 Bü E, das entsprach bei den Tieren mit Spontan Tumoren einem Fermentanstieg um etwa 160 Bü E, auf etwa 3- bis 4-fache Ausgangswerte, und bei den Tieren mit Polyomatumoren um etwa 130 Bü E, auf etwa 2- bis 3-fache Ausgangswerte. Der Anstieg der Serum-LDH der Mäuse mit primären Carcinomen war demnach nur wenig höher als der Fermentanstieg der tumorfreien virusbeimpften Kontrolltiere von durchschnittlich 120 Bü E. Daraus ergibt sich, daß bei den Tieren mit primären, spontanen oder Polyoma-Virus-induzierten, Carcinomen nach Riley-Virus-Beimpfung die höheren Serum-LDH-Werte gegenüber den tumorfreien virusbeimpften Kontrolltieren im wesentlichen durch Addition der virusbedingten Fermenterhöhung zu den erhöhten Ausgangswerten dieser Tiere zustandekommen (Tabelle 1).

Dagegen zeigte bei den Tieren mit dem Transplantationstumor Adenocarcinom 284 die Mittelwertskurve ebenso wie die einzelnen Versuchsreihen bereits zwischen dem 3. und 12. Tag post infectionem einen Fermentanstieg auf etwa 6- bis 7-fache Ausgangswerte, um etwa 220 Bü E, also einen etwas

höheren Fermentanstieg als einer Addition der virusbedingten Erhöhung des Serum-LDH-Spiegels zu dem erhöhten Ausgangswert entsprechen würde. Nach dem 12. Tag stieg dann der Serumfermentspiegel weiter bis auf etwa 10-fache Ausgangswerte an.

Tabelle 1 zeigt die Mittelwerte des Serum-LDH-Spiegels aller virusbeimpften Tiere mit den 3 verschiedenen Tumoren und aller virusbeimpften tumorfreien Kontrolltiere am 4. und 21. Tag nach der Infektion sowie die jeweilige Differenz zum Ausgangswert. Auch hier zeigt sich, daß die potenzierende Wirkung zwischen Riley-Virus und Tumoren auf den Serum-LDH-Spiegel auf die Transplantationstumoren beschränkt ist.

In Tabelle 2 sind alle verwertbaren Versuchsreihen mit Tieren mit spontanen, Polyoma- und Transplantationstumoren zusammengestellt. Als schwache Viruswirkung wurde eine Addition von virusbedingter LDH-Erhöhung und erhöhtem Serum-LDH-Spiegel bezeichnet, als starke Viruswirkung eine mindestens doppelt so starke Erhöhung als einer rein additiven Wirkung entsprechen würde. Auch diese Tabelle zeigt, daß die Viruswirkung bei Mäusen mit primären Carcinomen nur in einzelnen Versuchsreihen stark und anhaltend war, in den meisten Versuchsreihen nur vorübergehend und in einzelnen sogar nur schwach. Dagegen war in allen Versuchsreihen mit Tieren mit dem Transplantationstumor Adenocarcinom 284 die Viruswirkung stark und anhaltend. Zwei Versuchsreihen von Mäusen mit Adenocarcinom 284, die mit LDH-Virus aus Ehrlichschem Mäuse-Ascites-Tumor des Sloan-Kettering Institute, New York, beimpft worden waren, ergaben übereinstimmende Befunde.

## 2. Vergleich der Tumorgewichte mit dem Serum-LDH-Spiegel:

Da die hohen Fermentwerte bei Mäusen mit Tumoren, besonders bei Mäusen mit Transplantationstumoren, nicht allein durch Addition der virusbedingten Fermenterhöhung zu den erhöhten Ausgangswerten zu erklären waren, ergab sich die Frage, ob eine Abhängigkeit der Fermenterhöhung von der Tumormasse bestehe. Die Tumormasse kann dem Tumorgewicht zahlenmäßig gleichgesetzt werden. Daher wurden die Tumoren nach dem Tod der Tiere herauspräpariert und auf einer Mettler-Waage gewogen. Außerdem wurden die prozentualen Tumorgewichte bezogen auf die Gesamtgewichte der Tiere berechnet. Das Tumorgewicht wurde jeweils mit dem letzten vor dem Tod des Tieres gemessenen Serum-LDH-Wert verglichen.

Bei den Mäusen mit primären, spontan entstandenen oder durch Polyomavirus induzierten, Carcinomen wurden Tumoren mit einem Gewicht bis zu 6 g als klein gewertet, Tumoren mit einem Gewicht von über 6 g als groß.

TABELLE 1: Vergleich der Serum-LDH-Anstiege am 4. und 21. Tag nach Infektion mit LDH-Virus bei 3 verschiedenen Tumorarten. Neben dem absoluten Wert ist jeweils die Differenz zum Ausgangswert in Bü E/ml Serum angegeben. Die Werte sind das Mittel aus allen Versuchen, der Kurvenverlauf dazu ist in Abb. 2 dargestellt.

| Carcinome                         | Ausgangswert | 4. Tag | Differenz | 21. Tag | Differenz |
|-----------------------------------|--------------|--------|-----------|---------|-----------|
| Spontane                          | 58           | 159    | 101       | 209     | 151       |
| Polyoma-Virus-induzierte          | 89           | 210    | 121       | 221     | 132       |
| Transplant.<br>Adeno-Carcinom 284 | 39           | 230    | 191       | 354     | 315       |
| Kontrollen                        | 31           | 149    | 118       | 150     | 119       |

TABELLE 2: Zusammenstellung aller Versuchsreihen, in denen Mäuse mit primären Geschwülsten, spontanen Mamma-Carcinomen oder Polyoma-Virus-induzierten Mamma-Carcinomen, oder mit transplantierten Carcinomen mit LDH-Virus infiziert wurden. Die Definitionen für starke und schwache Viruswirkung sind im Text angegeben.

| Versuch               | Mamma-Carcinome    | Zahl der Tumormäuse | Versuchs-<br>dauer(Tage) | Viruswirkung<br>a. d. Serum-LDH |
|-----------------------|--------------------|---------------------|--------------------------|---------------------------------|
| 181 A                 | spontan            | 9                   | 3 - 14                   | stark; anhaltend                |
| 181 B                 | spontan            | 10                  | 2 - 10                   | stark; vorüberg.                |
| 246 A <sup>4)</sup>   | spontan            | 5                   | 4 - 15                   | stark; vorüberg.                |
| 246 B <sup>3)</sup>   | spontan            | 5                   | 4 - 21                   | kein Effekt                     |
| 261 B                 | Polyoma-Virus-ind. | 5                   | 4 - 33                   | schwach; sehr spät              |
| 232                   | Polyoma-Virus-ind. | 5                   | 2 - 28                   | kein Effekt                     |
| 260 A                 | Polyoma-Virus-ind. | 10                  | 3 - 29                   | schwach; anhaltend              |
| 260 B                 | spontan            | 3                   | 3 - 29                   | schwach; vorüberg.              |
| 272 A                 | spontan            | 3                   | 4 - 27                   | stark; vorüberg.                |
| 272 B <sup>2)4)</sup> | spontan            | 4                   | 4 - 27                   | stark; vorüberg.                |
| 272 C <sup>2)3)</sup> | spontan            | 3                   | 4 - 27                   | kein Effekt                     |
| 280 B                 | Polyoma-Virus-ind. | 3                   | 4 - 34                   | stark; vorüberg.                |
| 286 A <sup>4)</sup>   | Polyoma-Virus-ind. | 3                   | 4 - 21                   | stark; anhaltend                |
| 286 B <sup>3)</sup>   | Polyoma-Virus-ind. | 5                   | 4 - 21                   | schwach; vorüberg.              |
| 287                   | spontan            | 11                  | 6 - 13                   | stark; anhaltend                |
| 1 A <sup>1)2)</sup>   | spontan            | 3                   | 4 - 35                   | stark; anhaltend                |
| 1 B <sup>1)2)</sup>   | spontan            | 3                   | 4 - 29                   | stark; anhaltend                |
| 340 <sup>2)</sup>     | Transpl. - Tumor   | 6                   | 3 - 31                   | sehr stark; anhaltend           |
| 341 <sup>2)</sup>     | Transpl. - Tumor   | 6                   | 3 - 24                   | stark; anhaltend                |
| 351 <sup>2)</sup>     | Transpl. - Tumor   | 10                  | 3 - 24                   | stark; anhaltend                |

In den mit <sup>1)</sup> bezeichneten Versuchsreihen wurden die Tiere mit LDH-Virus aus Riley EAT beimpft, in allen anderen Versuchsreihen mit LDH-Virus aus dem Landschütz-Sarkom Sa I.

<sup>2)</sup> C3H/J/He/Han. -Inzuchtmäuse.

<sup>3)</sup> Kleine Tumoren.

<sup>4)</sup> Große Tumoren.

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse bei den Tieren mit Polyomatumoren. Bei den Tieren mit kleinen Tumoren - mit einem prozentualen Tumorgewicht bis 20 - lagen die Serumfermente zwischen 90 und 250 Bü E, bei den Tieren mit großen Tumoren - mit einem prozentualen Tumorgewicht über 20 - zwischen 130 und 650 Bü E.

Bei den Tieren mit Spontantumoren ergaben sich keine Beziehungen zwischen Tumorgewicht und Fermenthöhe. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Die Transplantationstumoren waren durchschnittlich wesentlich kleiner als die spontanen und Polyoma-Virus-induzierten Carcinome. Die Gewichte aller untersuchten Transplantationstumoren lagen unter 6 g. In Tabelle 5 wurden die Tumoren bis zu einem Gewicht von 3 g als klein gewertet, die Tumoren mit einem Gewicht von mehr als 3 g als groß. Bei den Tieren mit kleinen Tumoren ergab sich ein Mittelwert der Serum-LDH von 282 Bü E, bei den Tieren mit großen Tumoren von 363 Bü E. Eindeutige Unterschiede der Fermentwerte zwischen Tieren mit größeren und kleineren Tumoren ergaben sich nicht.

Außerdem betrugen die Serum-LDH-Werte der Tiere mit den insgesamt wesentlich kleineren Transplantationstumoren häufig ein Vielfaches der Fermentwerte der Tiere mit den im Durchschnitt sehr viel größeren spontan entstandenen und durch Polyoma-Virus induzierten Tumoren. Eine eindeutige Beziehung zwischen Tumormasse und Fermenthöhe konnte somit nicht festgestellt werden.

### 3. Tumorwachstum bei LDH-Virus-infizierten Mäusen mit spontanen und Transplantationstumoren und bei unbeimpften Kontrollmäusen mit Tumoren:

Eine Bestimmung der Gewichtszunahme der Tumoren durch Wiegen der Tiere ist nicht möglich, da in der Regel mit zunehmendem Tumorgewicht das Körpergewicht der Tiere abnimmt. Deshalb wurde die Tumorgröße im Abstand von je etwa 3 Tagen durch zweidimensionale Messungen mit der Schublehre bestimmt. Das Produkt aus den beiden Meßwerten wurde als Tumolvolumen für die vergleichenden Untersuchungen angenommen. Durch Bestimmung des kleinsten gemeinsamen Vielfachen wurden die Tumorgrößen aller Transplantationstumoren der Versuchsreihen 340 und 341 und ebenso aller Spontantumoren der Versuchsreihe 246 jeweils auf einen gemeinsamen Ausgangswert gebracht. Die Änderung des Tumolvolumens wurde für jedes Tier für jeden Versuchstag berechnet. Dann wurden die Mittelwerte des Tumolvolumens aller Tiere für die einzelnen Versuchstage berechnet (Tabelle 6 a und b) und in Abb. 3 a und b graphisch dargestellt. Bei Mäusen mit dem Transplantationstumor Adenocarcinom 284 betrug die Größenzunahme bei virusbeimpften Tieren 330 % und bei virus-

TABELLE 3: Die Serum-LDH bei Mäusen mit Polyoma-Virus-induzierten Tumoren nach Infektion mit LDH-Virus. Die Aufgliederung nach Gewicht und prozentualen Anteil des Tumors zeigt, daß bei Mäusen mit schwereren Tumoren, untere Hälfte der Tabelle, eine stärkere Fermentzunahme erfolgt.

| Versuchs-<br>Nr. | Tierzahl | Tumorgewicht (g) |        | Prozentuales Tumorgewicht |        | Serum-LDH |        |
|------------------|----------|------------------|--------|---------------------------|--------|-----------|--------|
|                  |          | Streuung         | Mittel | Streuung                  | Mittel | Streuung  | Mittel |
| 260              | 4        | 0,2 - 3,45       | 1,23   | 0,7 - 9,2                 | 3,47   | 140 - 190 | 157    |
| 261              | 4        | 1,2 - 5,0        | 2,67   | 3,8 -15,7                 | 8,1    | 107 - 202 | 162    |
| 280              | 2        | 2,42- 6,2        | 4,3    | 8,0 -15,6                 | 11,8   | 120 - 200 | 163    |
| 286              | 5        | 2,7 - 5,8        | 4,1    | 7,6 -14,7                 | 12,5   | 90 - 250  | 192    |
| 260              | 5        | 9,9 -32,3        | 16,25  | 20,1 -57,6                | 32,3   | 130 - 390 | 298    |
| 261              | 1        | -                | 37,2   | -                         | 52,8   | -         | 650    |
| 280              | 1        | -                | 30,8   | -                         | 55,0   | -         | 410    |
| 286              | 3        | 10,3 -14,0       | 12,0   | 32,3 -57,9                | 43,4   | 230 - 420 | 333    |

TABELLE 4: Die Serum-LDH bei Mäusen mit spontanen Mamma-Carcinomen nach Infektion mit LDH-Virus. Aufgliederung nach Gewicht und prozentualem Anteil des Tumors, schwerere Tumoren in der unteren Tabellenhälfte. Es besteht keine Abhängigkeit des Fermentanstieges von der Tumorgroße.

| Versuchs-<br>Nr. | Tierzahl | Tumorgewicht (g) |        | Prozentuales Tumorgewicht |        | Serum-LDH  |        |
|------------------|----------|------------------|--------|---------------------------|--------|------------|--------|
|                  |          | Streuung         | Mittel | Streuung                  | Mittel | Streuung   | Mittel |
| 260              | 2        | 4,0 - 6,8        | 5,4    | 13 - 22                   | 17,5   | 110 - 160  | 135    |
| 261              | 6        | 0,5 - 5,1        | 2,63   | 2 - 14                    | 7,32   | 160 - 400  | 255    |
| 272              | 6        | 1,3 - 5,0        | 3,36   | 5 - 24                    | 12,86  | 122 - 340  | 241,5  |
| 287              | 7        | 0,55 - 6,0       | 3,03   | 1 - 18                    | 8,15   | 150 - 460  | 247,14 |
| 25               | 5        | 1,72 - 2,66      | 2,18   | 6 - 10                    | 8      | 90 - 140   | 106    |
| 261              | 2        | 13,6 - 24,0      | 18,8   | 32 - 56                   | 44     | 150 - 205  | 177,5  |
| 272              | 3        | 5,9 - 16,6       | 8,13   | 26 - 35                   | 29,2   | 210 - 1017 | 539,8  |
| 287              | 4        | 10,1 - 16,43     | 11,9   | 25 - 34                   | 29,7   | 170 - 680  | 350    |
| 25               | 1        | -                | 8,7    | -                         | 26     | -          | 322    |

TABELLE 5: Die Serum-LDH bei Mäusen mit transplantierten soliden Carcinomen nach Infektion mit LDH-Virus. Aufgliederung wie in Tabelle 3 und 4. Es besteht keine Abhängigkeit des Fermentanstieges von der Tumorgroße.

| Versuchs-<br>Nr. | Tierzahl | Tumorgewicht (g) |        | Prozentuales Tumorgewicht |        | Serum-LDH |        |
|------------------|----------|------------------|--------|---------------------------|--------|-----------|--------|
|                  |          | Streuung         | Mittel | Streuung                  | Mittel | Streuung  | Mittel |
| 330              | 2        | 2,44 - 2,74      | 2,59   | 12 - 16                   | 14     | 138 - 180 | 159    |
| 333              | 4        | 1,72 - 2,5       | 2,08   | 8 - 12                    | 10     | 170 - 290 | 216    |
| 340              | 2        | 1,62 - 2,56      | 2,09   | 9 - 15                    | 12     | 240 - 350 | 295    |
| 341              | 1        | -                | 1,17   | -                         | 7      | -         | 200    |
| 351              | 2        | 1,95 - 2,15      | 2,05   | 11 - 12                   | 11,5   | 400 - 600 | 500    |
| 355              | 2        | 1,5 - 2,0        | 1,75   | 9 - 11                    | 10     | 405 - 470 | 438    |
| 330              | 1        | -                | 3,06   | -                         | 20     | -         | 112    |
| 333              | 1        | -                | 3,6    | -                         | 19     | -         | 160    |
| 340              | 2        | 3,06 - 5,18      | 4,12   | 16 - 22                   | 19     | 200 - 890 | 545    |
| 341              | 3        | 3,12 - 5,18      | 4,27   | 18 - 23                   | 20     | 200 - 400 | 283    |
| 351              | 7        | 3,04 - 5,92      | 4,42   | 14 - 25                   | 19     | 280 - 490 | 391    |
| 355              | 2        | 3,2 - 3,5        | 3,35   | 12 - 15                   | 13,5   | 260 - 360 | 310    |

freien Kontrollen 357 %, bei Mäusen mit Spontantumoren bei virusbeimpften Tieren 165 % und bei virusfreien Kontrollen 157 %. Es ergab sich also weder bei Tieren mit spontanen noch mit transplantierten Carcinomen ein wesentlicher Unterschied im Tumorstadium zwischen virusbeimpften und virusfreien Tieren.

#### 4. Virusgehalt von Tumor- und Organgewebe:

Aus dem wesentlich höheren Anstieg des Serum-LDH-Spiegels der Mäuse mit Tumoren, insbesondere mit Transplantationstumoren, nach Infektion mit dem Riley-Virus ergab sich die Frage, ob im Tumorgewebe eine schnellere Vermehrung oder eine Anreicherung des Virus stattfindet. Deshalb wurde der Virusgehalt des Tumorgewebes mit dem Virusgehalt des Organgewebes der tumortragenden Tiere und der virusinfizierten tumorfreen Tiere verglichen. Die Feststellung des Virusgehaltes erfolgte durch Bestimmung des infektiösen Titers. Die Infektiosität der genannten Gewebe wurde in verschiedenen Versuchsreihen zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Virusinfektion geprüft. Da sich nach Untersuchungen von NOTKINS und SHOCHAT (21) der Infektionstiter des Blutserums nach der Virusinfektion ständig ändert, lag es nahe, auch eine Änderung des infektiösen Titers des Tumor- und Organgewebes zu erwarten. In einzelnen Versuchsreihen bestimmten wir auch die Infektiosität des Blutserums der Tumortiere und der virusbeimpften tumorfreen Kontrolltiere. Die Bestimmung des infektiösen Titers erfolgte mehrmals im Zeitraum zwischen dem 4. und 34. Tag nach der Virusbeimpfung.

Die virusinfizierten tumortragenden Tiere und die mit demselben LDH-Agens beimpften tumorfreen Tiere einer Versuchsreihe wurden am gleichen Tag nach der Beimpfung getötet. Aus den Tumoren und aus den Organen Leber, Milz und Nieren wurden in der beschriebenen Weise (siehe Material und Methode) zellfreie Extrakte hergestellt und logarithmisch verdünnt. Mit den logarithmischen Verdünnungen der zellfreien Tumor- bzw. Organauszüge wurden gesunde Mäuse in Gruppen von je 2 oder 3 Tieren infiziert und der Infektionstiter in der Regel am 4. Tag nach der Beimpfung bestimmt.

Wie Tabelle 7 a, b und c zeigt, waren die Ergebnisse sehr uneinheitlich. Nur in einzelnen Versuchsreihen war der Infektionstiter des Tumorgewebes deutlich höher als der des Organgewebes der tumortragenden Tiere und der mit demselben LDH-Agens beimpften tumorfreen Tiere. Der Unterschied betrug dabei manchmal 6 - 10 Zehnerpotenzen. Dabei handelte es sich vorwiegend um Versuchsreihen, in denen der Infektionstiter am 4. bis 6. Tag nach der Virusinfektion bestimmt wurde. Bei Untersuchung des infektiösen Titers zu einem späteren Zeitpunkt nach der Beimpfung lagen die Werte für Tumorgewebe, Organgewebe der tumortragenden Tiere und Organgewebe der tumorfreen Kontrolltiere

TABELLE 6 a: Berechnung der Volumenänderung von transplantierten Carcinomen (Adenocarcinom 284) nach Infektion mit LDH-Virus aus den Versuchsreihen 340 und 341. Zweidimensionale Tumormessung mit der Schublehre. Ermittlung des kleinsten gemeinsamen Vielfachen, um einen gemeinsamen Ausgangspunkt zu bekommen. Errechnung des Gewichtsanstieges nach diesem Wert für die einzelnen Mäuse an jedem Versuchstag. Errechnung des Mittelwertes für jede der beiden Versuchsreihen und daraus des gemeinsamen Mittelwertes, der in der Abbildung 3a (s. dort) den Kontrollen gegenübergestellt ist. Die prozentuale Größenzunahme der Tumoren im Laufe des Versuches beträgt bei virusfreien Kontrollen 357 %, bei virusinfizierten Mäusen 330 %.

| Ver-<br>such   | Tumor | Volu-<br>men | ab-<br>ger. | Fak-<br>tor | 0     | 1     | 3     | 21    | 24    | 28    | 31    |
|----------------|-------|--------------|-------------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 340            | 1     | 1,05         | 1,0         | 180         | 1800  | 2340  | 2340  | 7560  | -     | 7380  | 6300  |
| 340            | 2     | 1,23         | 1,2         | 150         | 1800  | 1050  | 1050  | 6150  | -     | -     | -     |
| 340            | 3     | 0,82         | 0,8         | 225         | 1800  | 1800  | 3825  | 7875  | -     | -     | -     |
| 340            | 5     | 1,34         | 1,2         | 150         | 1800  | 2100  | 2700  | 4200  | -     | 4350  | 3600  |
| 340            | 6     | 0,96         | 1,0         | 180         | 1800  | 1080  | 1800  | 3600  | -     | 4680  | 3780  |
| 340            | 7     | 1,99         | 2,0         | 90          | 1800  | 3080  | 4600  | -     | -     | -     | -     |
| Mittelwerte    |       |              |             |             |       |       |       |       |       |       |       |
| von 340        |       |              |             |             | 1800  | 1908  | 2719  | 5877  | -     | 5970  | 4560  |
| 341            | 1     | 1,09         | 1,0         | 180         | 1800  | 2160  | 4120  | 6660  | -     | -     | -     |
| 341            | 2     | 1,06         | 1,0         | 180         | 1800  | 1800  | 2540  | 6120  | 4140  | -     | -     |
| 341            | 3     | 0,64         | 0,6         | 300         | 1800  | 2400  | 3300  | 13200 | 7800  | -     | -     |
| 341            | 4     | 1,84         | 1,8         | 100         | 1800  | 1860  | 1970  | 3820  | -     | -     | -     |
| 341            | 6     | 2,56         | 2,5         | 72          | 1800  | 1872  | 1656  | -     | -     | -     | -     |
| 341            | 7     | 0,85         | 0,8         | 225         | 1800  | 2475  | 3600  | -     | -     | -     | -     |
| Mittelwerte    |       |              |             |             |       |       |       |       |       |       |       |
| von 341        |       |              |             |             | 1800  | 2094  | 2864  | 7257  | 5870  | -     | -     |
| Mittel aus 340 |       |              |             |             |       |       |       |       |       |       |       |
| und 341        |       |              |             |             | 18,00 | 20,01 | 27,91 | 65,67 | 58,70 | 59,70 | 45,60 |
| Ko. 340        | 4     | 0,66         | 0,7         | 60          | 420   | 420   | 480   | -     | -     | -     | -     |
| Ko. 340        | 9     | 1,15         | 1,2         | 35          | 420   | 210   | 315   | -     | -     | -     | -     |
| Ko. 341        | 5     | 0,53         | 0,5         | 84          | 420   | 504   | 752   | -     | -     | -     | -     |
| Ko. 341        | 8     | 1,25         | 1,2         | 35          | 420   | 560   | 630   | 1505  | 1505  | -     | -     |
| Mittelwerte    |       |              |             |             | 420   | 423   | 544   | 1505  | 1505  | -     | -     |
| x Faktor 4     |       |              |             |             | 16,80 | 16,92 | 21,76 | 60,20 | 60,20 | -     | -     |

TABELLE 6 b: Berechnung der Größenveränderung von spontanen Mammacarcinomen nach Infektion mit LDH-Virus (Versuch 246). Zweidimensionale Tumormessung mit der Schublehre. Bereinigte Ausgangswerte durch das kleinste gemeinsame Vielfache. Errechnung der Größenänderung für die einzelnen Mäuse und den Versuchstag. Angabe der Mittelwerte, die in Abbildung 3 b graphisch dargestellt sind. Die prozentuale Größenzunahme der Tumoren im Laufe des Versuches beträgt bei virusfreien Kontrollen 157 %, bei virusinfizierten Mäusen 165 %.

Volumenänderung der Spontantumoren aus Versuch 246:

a) ohne Virus:

| Tumor       | Volumen | abger. | Faktor | 4   | 8   | 11  | 13  | 15  | 21  |
|-------------|---------|--------|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1           | 7,54    | 8      | 9      | 72  | 72  | -   | -   | -   | -   |
| 2           | 8,55    | 9      | 8      | 72  | 88  | 80  | 96  | 72  | -   |
| 3           | 12,75   | 12     | 6      | 72  | 66  | -   | -   | -   | -   |
| 4           | 8,8     | 9      | 8      | 72  | 88  | 96  | 96  | 120 | -   |
| 5           | 3,64    | 4      | 18     | 72  | 54  | 72  | 72  | 72  | -   |
| 8           | 1,00    | 1      | 72     | 72  | 144 | 144 | 72  | 72  | 72  |
| 9           | 0,81    | 1      | 72     | 72  | 144 | 144 | 72  | 72  | 216 |
| 10          | 1,56    | 2      | 36     | 72  | 72  | 72  | 36  | 36  | 72  |
| Mittelwerte |         |        |        | 72  | 91  | 101 | 74  | 74  | 120 |
| x Faktor 2  |         |        |        | 144 | 182 | 202 | 148 | 148 | 240 |

b) mit Virus:

| Tumor       | Volumen | abger. | Faktor | 4   | 8   | 11  | 13  | 15  | 21  |
|-------------|---------|--------|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 11          | 7,56    | 8      | 15     | 120 | 135 | 120 | 120 | 135 | 195 |
| 12          | 10,00   | 10     | 12     | 120 | 120 | 144 | -   | -   | -   |
| 13          | 6,08    | 6      | 20     | 120 | 120 | 140 | 160 | 180 | 200 |
| 14          | 3,42    | 3      | 40     | 120 | 160 | 160 | 160 | 200 | 200 |
| 15          | 3,00    | 3      | 40     | 120 | 120 | 160 | 160 | 200 | 240 |
| 16          | 2,25    | 2      | 60     | 120 | 120 | 180 | 180 | 240 | 240 |
| 17          | 1,96    | 2      | 60     | 120 | -   | -   | -   | -   | -   |
| 18          | 2,6     | 3      | 40     | 120 | -   | -   | -   | -   | -   |
| 19          | 2,8     | 3      | 40     | 120 | -   | -   | -   | -   | -   |
| 20          | 1,69    | 2      | 60     | 120 | 120 | 120 | 120 | 120 | 120 |
| Mittelwerte |         |        |        | 120 | 123 | 146 | 150 | 179 | 199 |

TABELLE 7 a: Infektionstiter von Transplantationstumoren. Alte Methode (siehe Text). Die Werte bedeuten infektiöse Einheiten, ausgedrückt in negativen Zehnerlogarithmen. Die in Klammern gesetzten Zahlen unter den Werten geben unsere Laborbezeichnungen an.

| Versuchstag              | 4.                                                                                                                                                                                                                                  | 6.                                                                           | 24.                                                                                                                                                                                                  | 31.                                                                                                                             |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tumoren                  | $> 10^{-20} +) b)$<br>$(333/1034 b)$<br>$10^{-13} *) b)$<br>$(333/1034 b)$<br>$< 10^{-2} +) b)$<br>$(355/1069)$<br>$> 10^{-12} +) b)$<br>$(333/1033 b)$<br>$10^{-6,5} *) b)$<br>$(333/1033 b)$<br>$< 10^{-2} +) b)$<br>$(355/1070)$ | $> 10^{-14} +) b)$<br>$(330/1012)$<br><br>$10^{-8,47} +) b)$<br>$(330/1011)$ | $< 10^{-1} a)$<br>$(341/1089)$<br>$10^{-2,5} a)$<br>$(341/1094)$<br>$10^{-2} a)$<br>$(351/1097)$<br>$10^{-3,5} a)$<br>$(341/1090)$<br>$10^{-3,5} a)$<br>$(341/1095)$<br>$10^{-2} a)$<br>$(351/1098)$ | $10^{-3,5} a)$<br>$(340/1084)$<br><br><br><br><br>$10^{-4,5} a)$<br>$(340/1085)$<br><br><br><br><br>$10^{-4,5}$<br>$(340/1086)$ |
| Organe der Tumortiere    |                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                              |                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                 |
| Organe der Kontrolltiere | $> 10^{-10} +)$<br>$(333/1032 b)$<br>$< 10^{-3} *)$<br>$(333/1032 b)$<br>$< 10^{-2} +)$<br>$(355/1071)$                                                                                                                             | $10^{-7} +)$<br>$(330/1010)$                                                 | $10^{-2}$<br>$(341/1091)$<br>$10^{-1,5}$<br>$(341/1096)$<br>$< 0,5 \times 10^{-1}$<br>$(351/1099)$                                                                                                   |                                                                                                                                 |

Erklärung siehe nächste Seite!

ERKLÄRUNG zu Tabelle 7 a:

---

- + ) Material nicht eingefroren.
- \* ) Material in Form der 1 : 9 mit weißer Hankslösung verdünnten Tumor- bzw. Organauszüge eingefroren.
- a ) Vorwiegend große Tumoren bzw. Organe von Tieren mit vorwiegend großen Tumoren.
- b ) Vorwiegend kleine Tumoren bzw. Organe von Tieren mit vorwiegend kleinen Tumoren.

TABELLE 7 b: Infektionstiter von Spontantumoren, Alte Methode (siehe Text).

Die Werte bedeuten infektiöse Einheiten, ausgedrückt in negativen Zehnerlogarithmen.

Die in Klammern gesetzten Zahlen unter den Werten geben unsere Laborbezeichnungen an.

| Versuchstag              | 6.                                  | 13.                              | 21.                                                                   | 29.                                |
|--------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| Tumoren                  | 10 <sup>-1,75</sup> b)<br>(261/876) | 10 <sup>-6</sup> a)<br>(287/913) | 10 <sup>-4,5</sup> a)<br>(246/838)<br>$\leq 10^{-1}$ b)<br>(246/840)  | 10 <sup>-9,5</sup> a)<br>(260/851) |
| Organe der Tumortiere    | 10 <sup>-4</sup> b)<br>(261/875)    | 10 <sup>-4</sup> a)<br>(287/912) | $\leq 10^{-1}$ a)<br>(246/839)<br>10 <sup>-5,67</sup> b)<br>(246/841) | 10 <sup>-4</sup> a)<br>(260/850)   |
| Organe der Kontrolltiere |                                     | 10 <sup>-2</sup><br>(287/905)    | 10 <sup>-4</sup><br>(246/836)                                         | 10 <sup>-6</sup><br>(260/852)      |

a) Vorwiegend große Tumoren bzw. Organe von Tieren mit vorwiegend großen Tumoren.

b) Vorwiegend kleine Tumoren bzw. Organe von Tieren mit vorwiegend kleinen Tumoren.

TABELLE 7 c: Infektionstiter von Polyoma-Virus-induzierten Tumoren. Alte Methode (siehe Text).

Die Werte bedeuten infektiöse Einheiten, ausgedrückt in negativen Zehnerlogarithmen.

Die in Klammern gesetzten Zahlen unter den Werten geben unsere Laborbezeichnungen an.

| Versuchstag              | 4.                         | 28.                         | 29.                         | 33.                       | 34.                       |
|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Tumoren                  | $<10^{-2}$ b)<br>(21/1108) | $10^{-13}$ b)<br>(232/833)  | $>10^{-11}$ c)<br>(260/848) | $10^{-6}$ b)<br>(261/880) | $10^{-4}$ c)<br>(280/899) |
| Organe der Tumortiere    | $<10^{-2}$ b)<br>(21/1109) | $10^{-6,5}$ b)<br>(232/807) | $10^{-8}$ c)<br>(260/849)   | $10^{-4}$ b)<br>(261/879) | $10^{-4}$ c)<br>(280/900) |
| Organe der Kontrolltiere | $<10^{-2}$<br>(21/1110)    | $10^{-10,5}$<br>(232/808)   | $10^{-6}$<br>(260/852)      |                           | $10^{-6,5}$<br>(280/890)  |

b) Vorwiegend kleine Tumoren bzw. Organe von Tieren mit vorwiegend kleinen Tumoren.

c) Je zur Hälfte große und kleine Tumoren bzw. Organe von Tieren mit je zur Hälfte großen und kleinen Tumoren.

fast immer in etwa gleichen Größenordnungen.

In weiteren Versuchen wurde geprüft, ob sich durch Änderungen der Herstellungsmethode der zellfreien Tumor- und Organauszüge einheitlichere Ergebnisse erhalten lassen. Die Änderungen (siehe Material und Methode) bestanden vor allem darin, daß zur Homogenisierung der Tumoren und Organe ausschließlich der Bühler-Homogenisator verwendet wurde, um nicht nur die Gewebe, sondern auch die einzelnen Zellen zu zertrümmern, und daß jeder Extrakt vor dem Zentrifugieren für 40 Minuten bei +4 Grad C in den Eisschrank gestellt wurde, um eine Eluation des Virus aus den Zellen zu ermöglichen. Die Tumoren und Organe wurden in diesen Versuchsreihen vor der Aufarbeitung bei -28 Grad C eingefroren. Die in Tabelle 8 zusammengestellten Versuchsergebnisse zeigen keinen wesentlichen Unterschied im Vergleich mit den in Tabelle 7 zusammengefaßten Ergebnissen der vorhergehenden Versuche.

Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse weiterer Versuche, die mit derselben Methode gewonnen wurden wie die in Tabelle 8 zusammengestellten mit dem einen Unterschied, daß die Tumoren und Organe sofort nach der Entnahme zu zellfreien Auszügen verarbeitet und in logarithmischer Verdünnung Mäusen intraperitoneal injiziert wurden. Es wurde also bei diesen Versuchen das Einfrieren vermieden. In zwei der nach dieser Methode durchgeführten Versuche wurde auch der Infektionstiter des Blutserums der Tumortiere und der virusinfizierten tumorfreien Tiere untersucht. Auch mit dieser Methode konnten wir keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den in Tabelle 7 und 8 zusammengestellten Ergebnissen der früheren Versuche feststellen. Am 4. Tag nach der Virusinfektion war der infektiöse Titer des Tumorgewebes um 9,2 Zehnerpotenzen höher als der infektiöse Titer des Organgewebes der tumortragenden Tiere und um 13 Zehnerpotenzen höher als der infektiöse Titer des Organgewebes der virusbeimpften tumorfreien Kontrolltiere. Am 6., 11., 24. und 31. Tag post infectionem fanden sich keine wesentlichen Titerunterschiede der drei genannten Gewebe. Der Infektionstiter des Blutserums der Tumortiere lag am 24. Tag nach der Virusinfektion 3 bzw. 4 Zehnerpotenzen höher als der Infektionstiter des Tumorgewebes bzw. des Organgewebes der tumortragenden Tiere, der Infektionstiter des Blutserums der virusbeimpften Kontrolltiere 6,25 Zehnerpotenzen höher als der Infektionstiter des Organgewebes dieser Tiere. Am 31. Tag nach der Virusinfektion waren keine wesentlichen Titerunterschiede zwischen Tumorgewebe, Organgewebe und Blutserum der Tumortiere sowie Organgewebe und Blutserum der Kontrolltiere festzustellen.

Wie die Tabellen 7, 8 und 9 zeigen, war der Virusgehalt des Tumorgewebes unabhängig davon, ob es sich um Spontan-, Polyoma- oder Transplantationstumoren handelte. Obwohl bei Tieren mit dem Transplantationstumor Ade-

TABELLE 8: Infektionstiter von Transplantations- und Spontan-tumoren, Neue Methode (siehe Text).

Material einmal eingefroren, Die Werte bedeuten infektiöse Einheiten, ausgedrückt in negativen Zehnerlogarithmen, Die in Klammern gesetzten Zahlen unter den Werten geben unsere Labor-bezeichnungen an.

| Versuchstag              | 4.                                     | 6.                               | 11.                                 | 24.                                 | 31.                                 |
|--------------------------|----------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Transpl. - tumoren       | 10 <sup>-10,5</sup> b)<br>(333/1034 a) | 10 <sup>-6</sup> a)<br>(30/1160) | 10 <sup>-2,75</sup> a)<br>(30/1172) | 10 <sup>-4,5</sup> a)<br>(351/1187) | 10 <sup>-3</sup> a)<br>(340/1166)   |
| Organe der Tumortiere    | 10 <sup>-5</sup> b)<br>(333/1033 a)    | 10 <sup>-3</sup> a)<br>(30/1159) | 10 <sup>-3,72</sup> a)<br>(30/1171) | 10 <sup>-2</sup> a)<br>(351/1186)   | < 10 <sup>-1</sup> a)<br>(340/1167) |
| Organe der Kontrolltiere | 10 <sup>-7</sup><br>(333/1032 a)       | 10 <sup>-4</sup><br>(30/1161)    | 10 <sup>-5,5</sup><br>(30/1173)     | < 10 <sup>-1</sup><br>(351/1188)    | < 10 <sup>-1</sup><br>(340/1168)    |
| Spontan-tumoren          |                                        |                                  | < 10 <sup>-1</sup> b)<br>(30/1193)  |                                     |                                     |
| Organe der Tumortiere    |                                        |                                  | < 10 <sup>-1</sup> b)<br>(30/1192)  |                                     |                                     |
| Organe der Kontrolltiere |                                        |                                  | 10 <sup>-3,5</sup><br>(30/1194)     |                                     |                                     |

a) Vorwiegend große Tumoren bzw. Organe von Tieren mit vorwiegend großen Tumoren.

b) Vorwiegend kleine Tumoren bzw. Organe von Tieren mit vorwiegend kleinen Tumoren.

TABELLE 9: Infektionstiter von Spontan Tumoren. Neue Methode (siehe Text). Material nicht eingefroren.

Die Werte bedeuten infektiöse Einheiten, ausgedrückt in negativen Zehnerlogarithmen. Die in Klammern gesetzten Zahlen unter den Werten geben unsere Laborbezeichnungen an.

| Versuchstag              | 4.                                 | 6.                               | 11.                                | 24.                              | 31.                              |
|--------------------------|------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Tumoren                  | 10 <sup>-16</sup> b)<br>(34/1215)  | 10 <sup>-5</sup> b)<br>(34/1218) | 10 <sup>-3,5</sup> c)<br>(34/1225) | 10 <sup>-6</sup> c)<br>(34/1238) | 10 <sup>-4</sup> a)<br>(34/1243) |
| Organe der Tumortiere    | 10 <sup>-6,8</sup> b)<br>(34/1216) | 10 <sup>-3</sup> b)<br>(34/1219) | 10 <sup>-7</sup> c)<br>(34/1226)   | 10 <sup>-5</sup> c)<br>(34/1239) | 10 <sup>-6</sup> a)<br>(34/1244) |
| Serum der Tumortiere     |                                    |                                  |                                    | 10 <sup>-9</sup> c)<br>(34/1240) | 10 <sup>-5</sup> a)<br>(34/1245) |
| Organe der Kontrolltiere | 10 <sup>-3</sup><br>(34/1217)      | 10 <sup>-7</sup><br>(34/1220)    | 10 <sup>-9</sup><br>(34/1227)      | 10 <sup>-3</sup><br>(34/1241)    | 10 <sup>-5</sup><br>(34/1246)    |
| Serum der Kontrolltiere  |                                    |                                  |                                    | 10 <sup>-9,25</sup><br>(34/1242) | 10 <sup>-5</sup><br>(34/1247)    |

a) Vorwiegend große Tumoren bzw. Organe von Tieren mit vorwiegend großen Tumoren.

b) Vorwiegend kleine Tumoren bzw. Organe von Tieren mit vorwiegend kleinen Tumoren.

c) Je zur Hälfte große und kleine Tumoren bzw. Organe von Tieren mit je zur Hälfte großen und kleinen Tumoren.

nocarcinom 284 nach Beimpfung mit dem Riley-Virus in der Regel eine sehr viel stärkere LDH-Erhöhung des Bluteserums eintritt als bei Tieren mit primären, spontan aufgetretenen oder Polyoma-Virus-induzierten, Carcinomen, fanden sich keine höheren Infektionstiter des Tumorgewebes der transplantierten im Vergleich mit den spontan aufgetretenen und den durch Polyoma-Virus-induzierten Carcinomen.

Ein deutlich höherer infektiöser Titer des Tumorgewebes gegenüber dem Infektionstiter des Organgewebes der tumortragenden Tiere und der virusinfizierten Kontrolltiere fand sich vor allem in Versuchsreihen mit überwiegend kleinen Tumoren. In anderen Versuchsreihen mit überwiegend kleinen Tumoren ergaben sich aber auch am 4. bis 6. Tag nach der Virusinfektion keine wesentlichen Unterschiede der Infektiosität der drei genannten Gewebe.

Bei den meisten Versuchsreihen wurde auch der Infektionstiter des Ausgangsmaterials bestimmt, mit dem die tumortragenden Tiere und die tumorfreien Kontrolltiere beimpft wurden (siehe Tabelle 10). Eine Beziehung zwischen dem infektiösen Titer des Ausgangsmaterials und dem infektiösen Titer des Tumorgewebes, des Organgewebes der tumortragenden Tiere und des Organgewebes der tumorfreien Kontrolltiere fand sich erwartungsgemäß nicht, da sich der Infektionstiter der genannten Gewebe - wie die Tabellen 7, 8 und 9 zeigen - nach der Beimpfung ständig ändert und die Tiere, von denen das Ausgangsmaterial gewonnen wurde, zu einem anderen Zeitpunkt nach der Virusinfektion getötet wurden als die Tumor- und Kontrolltiere der verschiedenen Versuchsreihen.

TABELLE 10: Infektionstiter des Ausgangsmaterials, mit dem die Tiere der einzelnen Versuchsreihen beimpft wurden.

| Infektionstiter<br>des Ausgangsmaterials | Tiefkühl-Nr. | Versuchs- Nr. |
|------------------------------------------|--------------|---------------|
| $10^{-8,3}$                              | 751          | 232           |
| $10^{-8,3}$                              | 751          | 246           |
| $10^{-5}$                                | 829          | 260           |
| $10^{-7}$                                | 829 b        | 261           |
| $10^{-13,55}$                            | 855          | 280           |
| $10^{-13,55}$                            | 855          | 287           |
| $10^{-8,57}$                             | 1053         | 355           |
| $10^{-8,57}$                             | 1053         | 21            |
| $10^{-8}$                                | 1125         | 30            |
| $10^{-8}$                                | 1125         | 34            |

## D. DISKUSSION

Nach Beimpfung mit dem Riley-Virus steigt der Serum-LDH-Spiegel bei Mäusen mit spontanen, Polyoma-Virus-induzierten und Transplantationstumoren wesentlich höher an als bei tumorfreien virusinfizierten Kontrolltieren. Während bei den meisten Tieren mit primären, spontan entstandenen oder durch Polyoma-Virus induzierten, Carcinomen der erhöhte Serumfermentspiegel durch Addition der virusbedingten Fermenterhöhung zum erhöhten Ausgangswert der Tumortiere zustandekommt, findet sich bei allen Tieren mit dem Transplantationstumor Adenocarcinom 284 und bei wenigen Tieren mit primären Carcinomen eine potenzierende Wirkung des Tumors auf den Serum-LDH-Spiegel, die von RILEY als Synergismus zwischen Geschwulstgewebe und LDH-Virus bezeichnet wurde (RILEY, 28, 29; RILEY et al., 31). Die Serum-LDH-Erhöhung betrug bei den virusinfizierten Tieren mit dem Transplantationstumor Adenocarcinom 284 mindestens das 10-fache, bei einzelnen Tieren sogar vorübergehend das 20-fache des Ausgangswertes. Auch PLAGEMANN und SWIM (22) fanden bei Tieren mit verschiedenen Tumoren nach Infektion mit dem Riley-Virus Unterschiede in der Höhe des Serum-LDH-Spiegels. Sie untersuchten aber nur verschiedene Arten von Transplantationstumoren, keine primären Carcinome. Der Serum-LDH-Spiegel der von ihnen untersuchten virusinfizierten Tiere mit verschiedenen Impftumoren betrug gegenüber dem Serumfermentspiegel virusfreier Kontrolltiere mit den gleichen Tumoren das 5- bis 15-fache.

RILEY und WROBLEWSKI (35) und NOTKINS und GREENFIELD (18) beobachteten bei Tumortieren nach Infektion mit dem Riley-Virus eine Serum-LDH-Erhöhung auf 100- bzw. 88-fache Ausgangswerte. In unseren Versuchen fand sich nur bei einem Tier mit dem Transplantationstumor Adenocarcinom 284 ein vorübergehender Anstieg des Serum-LDH-Spiegels auf fast das 100-fache des Ausgangswertes, von 26 auf 2590 Bü E. Bis zum Ende des Versuches nach weiteren 14 Tagen betrugen die Serum-LDH-Werte dieses Tieres das 20- bis 34-fache des Ausgangswertes.

RILEY fand häufig einen Abfall des Serum-LDH-Spiegels kurz vor dem Tod der Tumortiere (RILEY, 28, 29; RILEY und WROBLEWSKI, 35). Diese Beobachtung konnten wir nicht bestätigen. Wir sahen im Gegenteil bei Tieren mit primären, spontanen oder Polyoma-Virus-induzierten, Carcinomen häufig einen steilen Anstieg des Serum-LDH-Spiegels kurz vor dem Tode der Tiere, so daß die Mittelwertskurve des Serumfermentspiegels einer Versuchsreihe nach dem Tode dieser Tiere häufig auf Werte abfiel, die dem Serum-LDH-Spiegel der tumorfreien virusinfizierten Kontrolltiere entsprachen.

Nach Untersuchungen von RILEY et al. (33) kommt der erhöhte Serum-LDH-Spiegel der mit dem Riley-Virus infizierten Tiere vorwiegend durch eine

Hemmung der Clearance der Serum-LDH, zu einem geringen Teil auch durch eine vermehrte endogene Enzymproduktion zustande. Der stark erhöhte Serum-LDH-Spiegel der virusinfizierten Tumortiere ist mindestens zum Teil durch weitere Zunahme der endogenen Enzymproduktion, möglicherweise infolge Zerfalls von Tumorzellen, zu erklären, wobei die vermehrt anfallende LDH wegen der gehemmten Clearance nur langsam abgebaut werden kann. Die Verminderung der Clearance der Serum-LDH nach Infektion mit dem Riley-Virus stellen auch NOTKINS und SCHEELE (20) fest.

Die von uns beobachteten stark erhöhten Serum-LDH-Werte kurz vor dem Tod der Tumortiere könnten demnach durch Freisetzung von LDH aus nekrotischem Tumorgewebe zustandekommen, wobei die vermehrt angefallene LDH bis zum kurz nach dem Absterben zahlreicher Tumorzellen eingetretenen Tod der Tiere infolge der gehemmten Clearance nicht abgebaut wurde. Wird dagegen der Zerfall größerer Tumorbezirke überlebt, so könnte die aus dem nekrotischen Tumorgewebe stammende LDH allmählich abgebaut werden. So ließe sich ein Absinken eines vorübergehend auf 20-fache und bei einem unserer Versuchstiere sogar auf fast 100-fache Ausgangswerte erhöhten Serum-LDH-Spiegels erklären.

Die Möglichkeit einer zusätzlichen unspezifischen Serum-LDH-Erhöhung infolge bakterieller oder virogener Superinfektionen wurde durch bakteriologische und virologische Untersuchungen ausgeschlossen.

Eine Beziehung zwischen Tumorgöße und Höhe des Serum-LDH-Spiegels ließ sich in unseren Versuchen nicht nachweisen. Bei den Tieren mit den kleineren Transplantationstumoren fand sich eine weit stärkere Erhöhung des Serumfermentspiegels als bei den Tieren mit den meist sehr viel größeren primären Carcinomen.

Eine Wachstumsbeschleunigung der Tumoren nach Infektion mit dem Riley-Virus beobachteten wir weder bei Spontan Tumoren noch beim Transplantationstumor Adenocarcinom 284. Diese Befunde stimmen mit den Beobachtungen an Transplantationstumoren von NOTKINS und GREENFIELD (18) und von PLAGEMANN und SWIM (22) überein. Auch RILEY (29) fand bei primären Methylcholanthren-induzierten Tumoren keine Wachstumsbeschleunigung nach LDH-Virus-Infektion, dagegen beobachtete er eine starke Wachstumsbeschleunigung der Transplantate dieser Primärtumoren, die während der Induktionsphase mit Riley-Virus infiziert worden waren (RILEY, 28, 29). Diese Wachstumsbeschleunigung wurde von RILEY in sechs Transplantationspassagen des Tumors nachgewiesen.

In anderen Versuchen fand RILEY (29) eine Hemmung des Tumorwachstums nach Infektion mit dem LDH-Virus. Bei manchen Tumoren konnte er kei-

nen Unterschied in der Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren bei Riley-Virus-infizierten und nicht infizierten Tieren feststellen, obwohl erhebliche Unterschiede in der Höhe des Serum-LDH-Spiegels bestanden. CLOUGH et al. (4) fanden eine Wachstumsbeschleunigung von Tumoren nach Infektion mit dem Riley-Virus gegenüber Tumoren bei LDH-Virus-freien Tieren. GREGORY et al. (12) beobachteten bei einem Ehrlich-Ascites-Carcinom eine Wachstumsbeschleunigung nach Infektion mit einem Stamm des Riley-Virus und eine Wachstumshemmung nach Infektion mit einem anderen Riley-Virus-Stamm.

Eine Beeinflussung der Geschwindigkeit des Tumorwachstums durch das Riley-Virus ist also wahrscheinlich sowohl von der Art des untersuchten Tumors als auch vom verwendeten Virusstamm abhängig.

Eindeutige Unterschiede des Virusgehaltes des Tumorgewebes, des Organ Gewebes der virusinfizierten tumortragenden Tiere und des Organgewebes der virusinfizierten tumorfreen Kontrolltiere fanden sich nur in einzelnen unserer Versuchsreihen vorwiegend am 4. bis 6. Tag post infectionem, und zwar war in diesen Versuchsreihen der Virusgehalt des Tumorgewebes um 6 bis 10 Zehnerpotenzen höher als der Virusgehalt der beiden anderen genannten Gewebe. Diese Unterschiede im Virusgehalt beobachteten wir aber keineswegs in allen Versuchsreihen, in denen die Infektiosität der beschriebenen Gewebe in den ersten 6 Tagen nach der Virusbeimpfung untersucht wurde. Möglicherweise findet also in einzelnen Tumoren vorwiegend in den ersten Tagen nach der Infektion eine schnellere Vermehrung oder eine Anreicherung des Virus statt, wobei die Beschaffenheit und die Wachstumstendenz der verschiedenen Tumoren eine Rolle spielen könnten. Bei den Tumoren handelt es sich ja um ein sehr heterogenes Gewebe mit verschieden großen Nekrosen und z. T. auch mit Blutungen, und eine Virus-Replikation wird nur in intakten Zellen ablaufen. Auch der vorwiegend bei kleineren Tumoren beobachtete höhere Virusgehalt des Tumorgewebes spricht für die obige Annahme, da kleine Tumoren meist geringere Nekrosen haben als große.

Eine Abhängigkeit des Virusgehaltes des Tumorgewebes und des Organ Gewebes der tumortragenden Tiere von der Art des Tumors war nicht feststellbar. Die potenzierende oder synergistische Wirkung zwischen dem Riley-Virus und dem Transplantationstumor Adenocarcinom 284 kommt also - zumindest größtenteils - nicht durch eine schnellere Vermehrung oder Anreicherung des Virus im Gewebe des Transplantationstumors zustande. Diese Befunde stimmen mit den Beobachtungen von NOTKINS und GREENFIELD (18) überein, die keine Unterschiede der Infektiosität der Gewebe von Tumormäusen und von virusinfizierten Kontrollen fanden, obwohl die Serum-LDH-Werte der tumortragenden Tiere das 22-fache des Serumfermentspiegels der Kontrolltiere betragen.

Unsere Versuchsergebnisse sprechen für die Annahme RILEYs (33), daß der hohe Serumfermentspiegel nach Infektion mit dem LDH-Virus vorwiegend durch eine Hemmung der Clearance der Serum-LDH zustandekommt, wobei die besonders hohen Serumfermentwerte der tumortragenden Tiere durch eine vermehrte Freisetzung von LDH - wahrscheinlich vorwiegend aus nekrotisch gewordenem Tumorgewebe - verursacht werden, da die vermehrt ins Blut abgegebene LDH infolge der gehemmten Clearance nur langsam abgebaut werden kann.

Weiter ist aus den Versuchsergebnissen zu folgern, daß die stärkere Zunahme der Serum-LDH bei tumortragenden Tieren wahrscheinlich zu einem kleinen Teil auch durch eine schnellere Virusvermehrung oder Anreicherung des Virus im Tumorgewebe in Abhängigkeit von der Wachstumspotenz und unabhängig von der Art der Tumoren zustandekommt.

Der erhöhte Virusgehalt im Blutserum der Tumortiere und tumorfreier virusbeimpfter Kontrollen ist durch die Hemmung der Encym-Clearance zu erklären, die einen schnellen Abbau des aus Tumor- und Organewebe freigesetzten Encymes verhindert.

Schließlich ist wesentlich festzustellen, daß die von RILEY (28, 29, 31) beschriebene synergistische oder potenzierende Wirkung zwischen LDH-Virus und Tumorgewebe nur bei Transplantationstumoren zu beobachten und sicher nicht durch eine Anreicherung des Virus im Tumorgewebe bedingt ist.

## E. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden die Wechselwirkungen untersucht, die zwischen dem sog. LDH-Virus oder RILEY-VIRUS, einem die Lactatdehydrogenase und andere glykolytische Fermente des Blutserums erhöhenden Virus, und verschiedenen Geschwülsten der Maus bestehen. Im einzelnen wurden folgende Fragen bearbeitet: 1. der Verlauf der Serum-Lactatdehydrogenase nach Virusinfektion von Tumormäusen und von tumorfreien Kontrollmäusen sowie von virusfreien Tumormäusen, 2. die Beziehungen zwischen Tumorgröße und Serumfermentspiegel an LDH, 3. der Einfluß des Virus auf das Tumorstadium, 4. der Gehalt an infektiösem LDH-Virus im Tumorgewebe, den Organen der Tumortiere und den Organen der virusinfizierten tumorfreien Kontrolltiere.

Folgende Ergebnisse wurden gefunden:

1. Bei Tieren mit primären, spontan entstandenen oder Polyoma-Virus-induzierten, Carcinomen verursacht Riley-Virus meist nur eine Erhöhung des Serum-LDH-Spiegels, die einer Addition des allein virusbedingten Fermentanstieges zum ohnehin erhöhten Serumfermentspiegel von Tumortieren entspricht. Dage-

gen zeigen die Tiere mit dem Transplantationstumor Adenocarcinom 284 nach Virusinfektion einen über die rein additive Wirkung hinausgehenden Anstieg des Serum-LDH-Spiegels; RILEY (28, 29, 31) hatte diese Befunde als Synergismus zwischen Virus und Geschwulstgewebe bezeichnet.

2. Beziehungen zwischen der Höhe des Serumfermentspiegels und der Größe der Tumoren fanden wir weder bei primären noch bei transplantierten Carcinomen.

3. Unterschiede der Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren zwischen LDH-Virus-infizierten und virusfreien Mäusen waren nicht nachweisbar.

4. Es ergaben sich unterschiedliche Befunde bezüglich des Gehaltes an infektiösem Virus im Tumorgewebe im Vergleich zum Organgewebe der tumortragenden Tiere sowie tumorfreier virusinfizierter Kontrolltiere: Nur in einzelnen Versuchsreihen, vorwiegend der ersten sechs Tage nach Infektion, fand sich ein vermehrter Virusgehalt des Tumorgewebes. Dagegen bestanden keine Unterschiede im Virusgehalt von primären und transplantierten Carcinomen, die sich, wie gezeigt, im Grad der Serumfermentverschiebung unterscheiden. Damit wurde die Überlegung hinfällig, daß unterschiedliche Serumfermentwerte durch höheren Virusgehalt des schneller wachsenden Transplantationstumors bedingt sein könnten.

Nachdem die sehr zahlreichen Untersuchungen über den Gehalt an infektiösem LDH-Virus in den verschiedenen Geweben insgesamt keine verwertbaren Unterschiede erbracht haben, aber andererseits quantitative Unterschiede der Serumfermenterhöhung bestehen, ist anzunehmen, daß die Serumfermenterhöhung wesentlich von blockierenden Einflüssen des Tumors auf das für den Encymabbau verantwortliche Zellsystem, wohl das RHS, abhängig ist. Diese Überlegung steht in guter Übereinstimmung mit der allgemein geäußerten Erklärung für die LDH-Virus-bedingte Serumencymmerhöhung (NOTKINS und SCHEELE, 20; RILEY et al., 33): Sie soll durch Blockierung der Encym-umsetzenden Zellen und weniger durch erhöhte Encymfreisetzung geschehen.

## F. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAMS, D. H., K. E. K. ROWSON, and M. H. SALAMAN:  
The effect of tumours, of leukaemia, and of some viruses associated with them, on the plasma lactic dehydrogenase activity of mice.  
Brit. J. Cancer 15, 860 (1961).
2. BAYERLE, H., A. GEORGII u. K. E. RICHARD:  
Über die Aktivität von Serumfermenten nach zellfreier Beimpfung mit Ehrlichschem Mäusetumorscites.  
Klin. Wschr. 40, 920 (1962).
3. BLADEN jr., H. A. and A. L. NOTKINS:  
Electron microscopic demonstration of the lactic dehydrogenase agent.  
Virology 21, 269 (1963).
4. CLOUGH, J., A. LOHAUS, and D. A. WIGHT:  
Fed. Proc. 24, 597 (1965).
5. CRISPENS, C. G.:  
Serum lactic dehydrogenase levels in mice during the development of autochthonous and chemically induced tumors.  
J. nat. Cancer Inst. 30, 361 (1963).
6. GEORGII, A.:  
Die Aktivitätsänderung der Lactatdehydrogenase im Serum nach Infektion mit Geschwulstvirus der Maus als Regulationsstörung in vivo.  
Verh. dtsch. Ges. Path. 46, 357 (1962).
7. GEORGII, A.:  
Über das Lactatdehydrogenase-erhöhende Virus in Laboratoriums-geschwülsten.  
Klin. Wschr. 42, 559 (1964).
8. GEORGII, A., H. BAYERLE, D. BRDICZKA u. H. ZOBL:  
Über ein die Lactatdehydrogenase im Serum aktivierendes Virus aus Geschwülsten der Maus.  
Z. Krebsforsch. 65, 334 (1963).
9. GEORGII, A., M. JÄGER, H. KROTH u. H. BAYERLE:  
Aktivitätsänderungen der Lactatdehydrogenase im Mäuseplasma durch Beimpfung mit virushaltigen Geschwulstfiltraten oder virushaltigen Gewebekulturen.  
Experientia (Basel) 18, 71 (1962).

10. GEORGII, A., H. KROTH u. H. BAYERLE:  
Weitere Untersuchungen über die Aktivierung der Lactatdehydrogenase im Serum durch ein Geschwulstvirus der Maus.  
Klin. Wschr. 40, 363 (1962).
11. GEORGII, A. u. H. WRBA:  
Über die Entwicklung des cytopathogenen Effektes durch drei verschiedene Polyoma-Virus-Linien in Mäuseembryonalkulturen.  
Z. Krebsforsch. 65, 582 (1963).
12. GREGORY, K. F., C. W. NG, and L. E. BLIZZARD:  
Proc. Can. Soc. Microbiol., 1965.
13. LENZ, I.:  
Das Lactatdehydrogenase-erhöhende Virus aus Mäusegeschwülsten (Riley-Virus). II. Versuche zur Virusvermehrung in verschiedenen Zellkulturen.  
Inaug.-Diss. München 1965.
14. LÖBLICH, H. J. u. Ch. LANDSCHÜTZ:  
Vergleichende elektronenoptische Untersuchungen am Ehrlich- und Sa I-Ascitestumor.  
Z. Krebsforsch. 63, 269 (1960).
15. MAHY, B. W., C. W. PARR, and K. E. K. ROWSON:  
Increased plasma isomerase and transaminase activity in mice infected with lactic dehydrogenase-elevating virus.  
Nature (Lond.) 198, 885 (1963).
16. MUNDY, J. and P. C. WILLIAMS:  
Transmissible agent associated with some mouse neoplasms.  
Science 134, 834 (1961).
17. NOTKINS, A. L., R. J. BERRY, J. B. MOLONEY, and R. E. GREENFIELD:  
Relationship of the lactic dehydrogenase factor to certain murine tumours.  
Nature (Lond.) 193, 79 (1962).
18. NOTKINS, A. L. and R. E. GREENFIELD:  
Infection of tumor-bearing mice with the lactic dehydrogenase agent.  
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 109, 988 (1962).
19. NOTKINS, A. L., R. E. GREENFIELD, D. MARSHALL, and L. BANE:  
Multiple enzyme changes in the plasma of normal and tumor-bearing mice following infection with the lactic dehydrogenase agent.  
J. exp. Med. 117, 185 (1963).

20. NOTKINS, A. L. and Ch. SCHEELE:  
Impaired clearance of enzymes in mice infected with the lactic dehydrogenase agent.  
J. nat. Cancer Inst. 33, 741 (1964).
21. NOTKINS, A. L. and S. J. SHOCHAT:  
Studies on the multiplication and the properties of the lactic dehydrogenase agent.  
J. exp. Med. 117, 735 (1963).
22. PLAGEMANN, P. G. W. and H. E. SWIM:  
Relationship between the lactic dehydrogenase-elevating virus and transplantable murine tumors.  
(Im Druck)
23. PLAGEMANN, P. G. W., B. WATANABE, and H. E. SWIM:  
Plasma lactic dehydrogenase elevating agent of mice: Effect of levels of additional enzymes.  
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 111, 749 (1962).
24. PRECHTEL, K.:  
Über das Ferment-erhöhende Virus aus Laboratoriumsgeschwülsten der Maus (Riley-Virus): III. Virusinaktivierung durch Kälte, Hitze, Formol und Natriumdesoxycholat.  
Inaug.-Diss. München 1965.
25. RAUEN, H. M. u. H. HUPE:  
Das Lactatdehydrogenase-Agens im Blute tumortragender Mäuse.  
Arzneimittel-Forsch. (Drug Res.) 13, 1933 (1963).
26. REED, L. J. and H. MUENCH:  
A simple method of estimating fifty per cent endpoints.  
Amer. J. Hyg. 27, 493 (1938).
27. RILEY, V.:  
Adaptation of orbital bleeding technique to rapid serial blood studies.  
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 104, 751 (1960).
28. RILEY, V.:  
Virus-tumor synergism.  
Science 134, 666 (1961).
29. RILEY, V.:  
Synergistic glycolytic activity associated with transmissible agents and neoplastic growth.  
J. gen. Physiol. 45, 614 (1962).

30. RILEY, V., E. HUERTO, F. LILLY, D. BARDELL, J. D. LOVELESS, and M. A. FITZMAURICE:  
Some characteristics of virus-like entities associated with thirty varieties of experimental tumors.  
Proc. Amer. Ass. Canc. Res. 3, 261 (1961).
31. RILEY, V., E. HUERTO, J. D. LOVELESS, D. BARDELL, M. FITZMAURICE, and C. FORMAN:  
Role of viruses in the biochemical and pathological behaviour of tumor and host.  
VIII. Intern. Cancer Congr. Moscow 1962.
32. RILEY, V., F. LILLY, E. HUERTO, and D. BARDELL:  
Transmissible agent associated with 26 types of experimental mouse neoplasms.  
Science 132, 545 (1960).
33. RILEY, V., J. D. LOVELESS, and M. A. FITZMAURICE:  
Clearance of lactic dehydrogenase (LDH) in normal and virus-infected hosts.  
(Im Druck)
34. RILEY, V., J. D. LOVELESS, M. FITZMAURICE, and M. L. EIDINOFF:  
Preliminary studies on size of lactic dehydrogenase elevating virus-like agents.  
(Im Druck)
35. RILEY, V. and F. WROBLEWSKI:  
Serial lactic dehydrogenase activity in plasma of mice with growing or regressing tumors.  
Science 132, 151 (1960).
36. ROWSON, K. E. K., D. H. ADAMS, and M. H. SALAMAN:  
Riley's enzyme elevating virus: A study of the infection in mice and its relation to virus induced leukemia.  
VIII. Intern. Cancer Congr. Moscow 1962.
37. ROWSON, K. E. K., B. W. MAHY, and M. H. SALAMAN:  
Size estimation by filtration of the enzyme elevating virus of Riley.  
Life Sci. 7, 479 (1963).
38. ZOBL, H.:  
Das Lactatdehydrogenase-erhöhende Virus aus Mäusegeschwülsten (Riley-Virus). I. Sein Vorkommen in einigen Geschwülsten und einige Eigenschaften bei seiner Übertragung.  
Inaug.-Diss. München 1965.

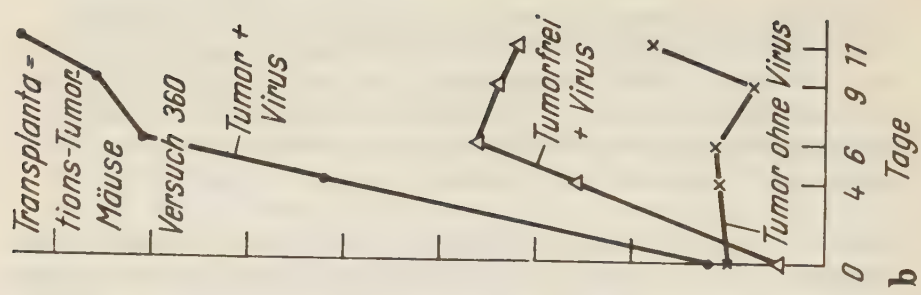
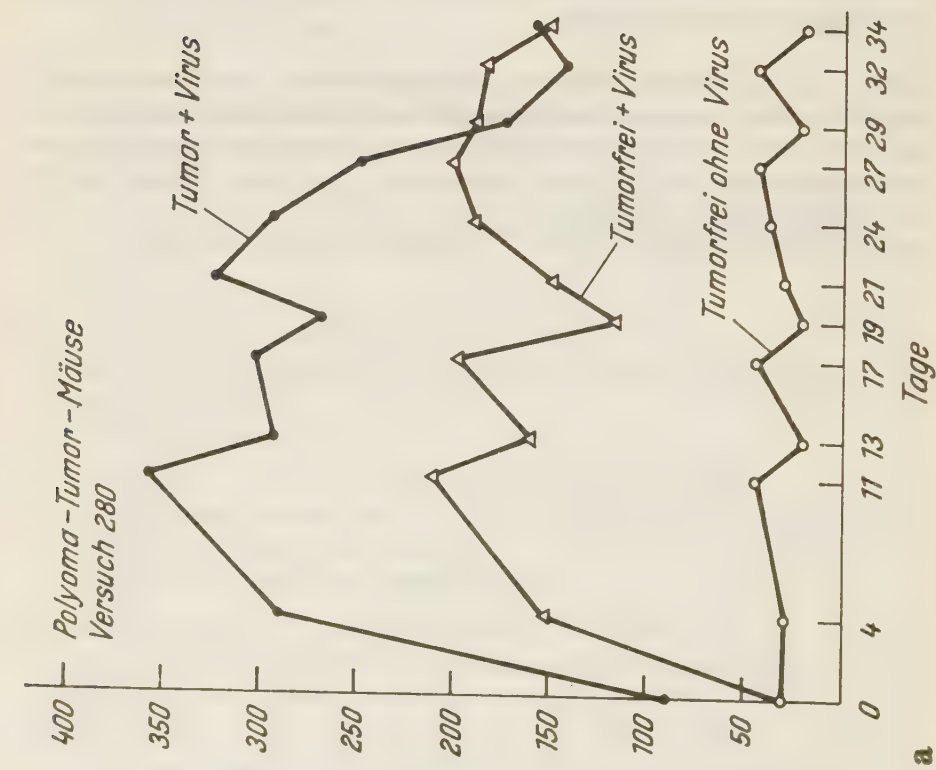
## LEGENDEN zu Abb. 1 bis 3:

Abb. 1 a u. b. a Serum-LDH bei Mäusen mit Polyoma-Virus-induzierten Carcinomen im Vergleich zu tumorfreien virusinfizierten Kontrollen. 3 Wochen nach Infektion mit LDH-Virus fallen hier die erhöhten Fermentwerte der virusinfizierten Tumormäuse ab. b Serum-LDH bei Mäusen mit transplantiertem Adenocarcinom 284. Die stark erhöhten Fermentwerte bleiben erhalten; hier wurde nach 11 Tagen der Versuch beendet (vgl. auch die Abb. 2).

Abb. 2. Verlauf der Serum-LDH aufgrund von Mittelwerten aus allen, zu verschiedenen Zeiten durchgeführten Versuchsreihen, in denen Mäuse mit den verschiedenen Tumorarten mit LDH-Virus aus dem Landschütz-Sarkom Sa I infiziert worden waren. Die Zahl der Tumormäuse liegt über 20 für jeden Wert. Die sog. synergistische Beziehung zwischen Tumor und Virus zeigt sich am deutlichsten bei transplantierten Carcinomen.

Abb. 3 a u. b. Größenzunahme von Mäusegeschwülsten nach Infektion mit LDH-Virus. Berechnung der Tumorgröße aus zweidimensionalen Messungen mit der Schublehre. Berechnung des Mittelwertes aus mehreren ( $n = 7$  bis 10) Tumoren durch Multiplikation auf einen gemeinsamen Ausgangswert. Prozentuale Größenzunahme ist im Text angegeben.

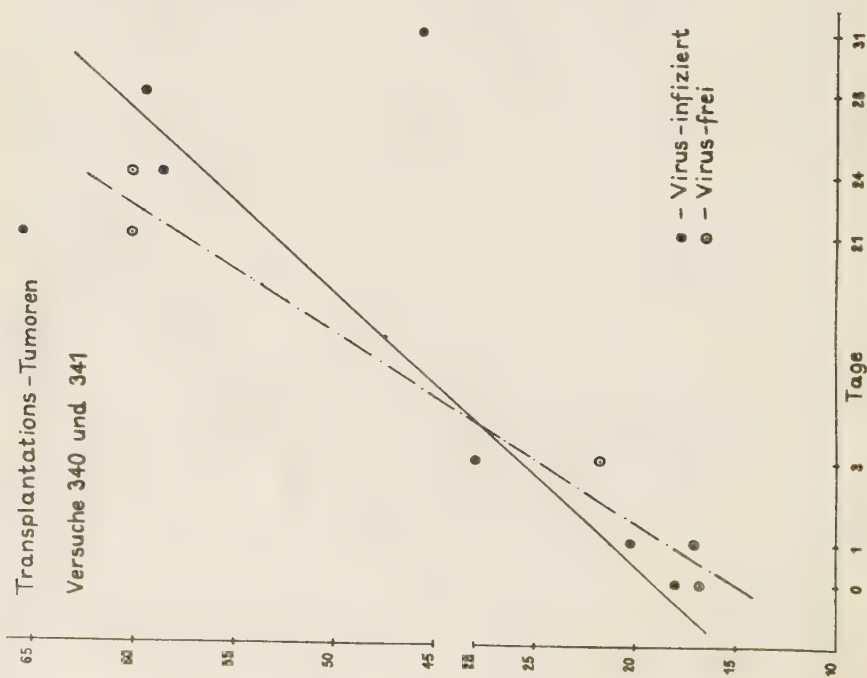
a Transplantiertes Adenocarcinom, b Spontane Mammacarcinome.





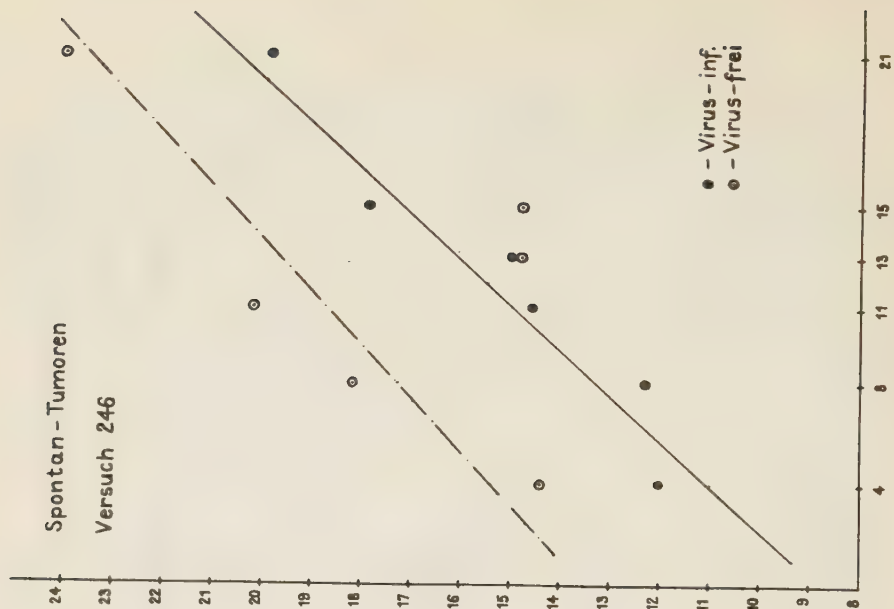
## Transplantations-Tumoren

Versuche 340 und 341



## Spontan-Tumoren

Versuch 246



## ADDENDUM

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die im Rahmen des Forschungsvorhabens Ge 121/6 gewährte Sachmittelbeihilfe.

Herrn Professor Dr. Dr. H. WRBA danken wir für die gemeinsame Züchtung des Transplantationstumors, Adenocarcinim 284.

Herrn Professor Dr. A. GEORGII danke ich für die Anregung und Leitung der Arbeit.

Fräulein Gisela BACHL danke ich für technische Mitarbeit.

## LEBENS LAUF

Ich wurde am 9. April 1934 in Asch in der ČSR als Tochter des Betriebsleiters der Vereinigten Ascher Färbereien Adolf Thorn und seiner Ehefrau Friederike, geb. Walter, als drittes von vier Kindern geboren. In meiner Vaterstadt besuchte ich die Volksschule und dann ein halbes Jahr die Oberschule bis zum Einmarsch der Amerikaner im April 1945. Da ich als Deutsche in der neuerrichteten ČSR keine Schule besuchen durfte, konnte ich erst nach unserer Ausweisung im Juni 1946 in Wessobrunn in Oberbayern wieder in die Volksschule gehen. Wegen der schlechten Autobusverbindung mußte ich ein Jahr lang in die 7. Klasse der Volksschule in Wessobrunn gehen. Von 1947 bis 1950 besuchte ich die 3., 4. und 5. Klasse der Oberschule in Weilheim in Oberbayern und von 1950 bis 1953 die 7., 8. und 9. Klasse der Isolde-Kurz-Oberschule in Reutlingen in Württemberg, wo ich am 25. Februar 1953 die Reifeprüfung bestand.

Vom Sommersemester 1953 bis einschließlich Wintersemester 1955/56 studierte ich Medizin an der Universität Tübingen, wo ich am 31. Oktober 1955 die Ärztliche Vorprüfung ablegte. Vom Sommersemester 1956 bis einschließlich Sommersemester 1958 studierte ich an der Universität München und bestand hier am 4. Februar 1959 das Ärztliche Staatsexamen.

Vom 5. Februar 1959 bis zum 31. Dezember 1959 war ich in der II. Medizinischen Klinik der Universität München, vom 1. Januar 1960 bis zum 31. Mai 1961 im Pathologischen Institut der Universität München, vom 1. Juni 1961 bis zum 30. September 1961 in der II. Frauenklinik der Universität München und vom 1. Oktober 1961 bis zum 31. Januar 1962 in der Chirurgischen Klinik der Universität München als Medizinalassistentin tätig. Am 31. Januar 1962 erhielt ich die Bestallung als Arzt.

Seit 1. Februar 1962 arbeite ich im Pathologischen Institut der Universität München. Zunächst war ich drei Monate lang Volontärassistentin, seit 1. Mai 1962 verwalte ich eine wissenschaftliche Assistentenstelle.







